BAND 24, HEFT 2 JULI 1955

PHYTOPATHOLOGISCHE ZEITSCHRIFT

Begründet von Prof. Dr. E. Schaffnit

Unter Mitwirkung von

Prof. Dr. E. Baldacci, Mailand / Prof. Dr. H. Braun, Bonn / Prof. Dr. W. B. Brierley, Keswick-Cumberland / Prof. Dr. Takewo Hemmi, Kyoto / Oberreg.-Rat i. R. Dr. E. Köhler, Braunschweig / Prof. Dr. K. O. Müller, Canberra / Prof. Dr. H. M. Quanjer, Wageningen Prof. Dr. Tr. Savulescu, Bukarest / Prof. Dr. E. C. Stakman, St. Paul

herausgegeben von den Professoren

E. Gäumann Zürich

M. Klinkowski Aschersleben

H. Richter Berlin-Dahlem

Mit 36 Abbildungen

1955

PAUL PAREY IN BERLIN UND HAMBURG

Phytopath. Z. Bd. 24, Heft 2, *S. 117—244, Berlin 1955*

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE 15 AUG 1955

INHALT

Abhandlungen

BARTELS, W., Der gegenwärtige Stand der Forschung auf dem Gebiet der Inaktivierung pflanzenpathogener Viren, insbesondere des Tabakmosaikvirus. Mit 1 Abb. 117

BRUHN, CHR., Untersuchungen über die *Botrytis*-Krankheit der Gladiolen. Mit 9 Abb. 179

STEINECK, O., Untersuchungen und Beobachtungen über die Fadenkeimigkeit von Kartoffelknollen. Mit 3 Abb. 195

BRANDES, J., und ZIMMER, K., Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die viröse Vergilbungskrankheit der Rübe (beet yellows). Mit 3 Abb. 211

EBERT, V. A., Versuche über die quantitative Bestimmung der β-Indolylessigsäure (Heteroauxin) und ihre Lokalisierung im Gewebe der Pflanze. Mit 20 Abb. 216

Besprechungen 243

Manuskripte: In deutscher, englischer, französischer oder italienischer Sprache abgefaßte Originalarbeiten werden druckfertig und möglichst in Schreibmaschinenschrift erbeten. Aufnahme von Tabellen und Abbildungen unterliegt jeweils vorheriger Vereinbarung.
„Kurze Mitteilungen" sind solche Veröffentlichungen in den vorerwähnten Sprachen, die im allgemeinen einen Umfang von vier Druckseiten nicht übersteigen. Sie erscheinen möglichst schon im nächsten Heft.
Die „Besprechungen" erscheinen nur in deutscher Sprache.

Herausgeber: Prof. Dr. E. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstraße 2, Prof. Dr. M. Klinkowski, Aschersleben, Ermslebener Str. 52, und Prof. Dr. H. Richter, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Str. 19.
Zusendung der Manuskripte von Originalarbeiten und „Kurzen Mitteilungen" entweder an den Verlag Paul Parey, Berlin SW 68, Lindenstraße 44/47, oder an einen der drei Herausgeber.
Zusendung der „Besprechungen" unmittelbar an Prof. Richter, Berlin-Dahlem. Soweit nicht eine Aufforderung der Herausgeber zur Besprechung bestimmter Arbeiten ergangen ist, empfiehlt es sich, Prof. Richter vorher von der Absicht der Besprechung zu verständigen.

Honorierung: Das Mitarbeiterhonorar für Originalarbeiten und „Kurze Mitteilungen" beträgt 32,— DM je Druckbogen von 16 Seiten. Bei Beiträgen von mehr als drei Bogen werden nur die drei ersten Bogen honoriert; Dissertationen und Buchbesprechungen sind honorarfrei.

Sonderdrucke: Jeder Mitarbeiter erhält unberechnet 20 Sonderdrucke seines Beitrages (Originalarbeiten und Kurze Mitteilungen). Mehrbedarf gegen Berechnung.

Erscheinungsweise: Die Zeitschrift erscheint in zwangloser Folge. Jährlich erscheinen etwa 8 Hefte, von denen 4 einen Band bilden. Jeder Band enthält etwa 30 Druckbogen.

Bezugsbedingungen: Der Preis des Bandes richtet sich nach dem Umfang. Er beträgt je Druckbogen von 16 Seiten etwa 3,— DM. Die Hefte sind auch einzeln käuflich. Das Abonnement verpflichtet zum Bezug eines ganzen Bandes. Es verlängert sich jeweils, falls nicht spätestens unverzüglich nach Eingang der letzten Lieferung des berechneten Bandes Abbestellung erfolgt.

Abonnementspreis dieses Heftes 23,40 DM **Einzelpreis 25,40 DM**

Aus dem Institut für Phytopathologie und Pflanzenschutz
der Universität Rostock
Direktor: Prof. Dr. E. Reinmuth

Der gegenwärtige Stand der Forschung auf dem Gebiet der Inaktivierung pflanzenpathogener Viren, insbesondere des Tabakmosaikvirus

Von

W. Bartels

Mit 1 Abbildung

Inhalt: 1. Der Inaktivierungsbegriff. — 2. Der Boden als Summe aktivitätsbeeinflussender Faktoren bei der Bodenübertragung des Tabakmosaikvirus (TMV). — 3. Physikalische aktivitätsbeeinflussende Faktoren: a) Hohe Temperaturen, b) Tiefe Temperaturen, c) Trocknung, d) Verdünnung, e) Zeit, f) Druck, g) Bestrahlung, h) Ultraschall und Ultrazentrifuge, i) Elektrische Ladung. — 4. pH-Wert und Pufferung als aktivitätsbeeinflussende Faktoren. — 5. Chemikalien als aktivitätsbeeinflussende Faktoren (mit Tabelle, gegliedert nach der Wirksamkeit der Substanzen). — 6. Fermente, Seren, Blut und Eiweiße bzw. einweißhaltige Substanzen als aktivitätsbeeinflussende Faktoren: a) Fermente, b) Seren, c) Blut, d) Eiweiß bzw. eiweißhaltige Substanzen. — 7. Bakterien und Pilze als aktivitätsbeeinflussende Faktoren (mit Tabelle, gegliedert nach Pflanzenfamilien). — 8. Pflanzliche Preßsäfte als aktivitätsbeeinflussende Faktoren (mit Tabelle, gegliedert nach Pflanzenfamilien). — 9. Insektensaft als aktivitätsbeeinflussender Faktor. — 10. Feststellungen über den Mechanismus der Hemmwirkung, die von allgemeiner Bedeutung sind. — Literaturverzeichnis.

1. Der Inaktivierungsbegriff

Bevor eine Zusammenfassung einer Reihe von Faktoren gegeben wird, die die Aktivität des Tabakmosaikvirus (TMV) in der verschiedensten Art beeinflussen können, ist die allgemeine Klärung einiger Begriffe notwendig, mit denen die unterschiedlichen Grade der Aktivitätsminderung von Viren in der Literatur bezeichnet werden. Die meisten Autoren gebrauchen die Ausdrücke inhibition = Hemmung oder inactivation = Inaktivierung, ohne sie näher zu definieren.

Johnson (1941) unterscheidet nach seinen Arbeiten, die vorwiegend mit Chemikalien durchgeführt wurden, zweierlei:

1. Inaktivierung und
2. Destruktion oder Tod des Virus.

Dabei soll die Bezeichnung Inaktivierung für ein bewiesenes oder wahrscheinliches zeitweiliges Nachlassen der Infektiosität reserviert werden,

bei dem die Reaktivierung durchgeführt werden kann oder möglich sein dürfte aus dem logischen Grunde, daß keine bekannten tödlichen Agentien angewandt wurden.

Chemikalien, die Destruktion oder Tod des Virus verursachen oberhalb bestimmter Konzentrationen und Einwirkungszeiten, müßten getrennt werden in toxische (vielfach, aber nicht notwendig, proteinpräzipitierende) Agentien, oxydierende Agentien und Agentien mit einem pH-Wert um 1,5 herum oder tiefer und um 11,0 oder darüber.

UTECH und JOHNSON (1950) unterscheiden auch nach den Versuchen über die Einwirkung von Pilz- und Bakterienwachstumsprodukten und -extrakten weiterhin diese zwei Gruppen, nämlich:

1. Inaktivatoren, das sind Substanzen, die die Infektionskapazität eines Virus herabsetzen, sie aber nicht notwendigerweise zerstören. Die Minderung der Infektiosität ist dabei reversibel. Zu dieser Gruppe gehören die von ihnen 1950 untersuchten Wachstumsprodukte und Extrakte von Pilzen und Bakterien.
2. Substanzen, bei denen die Zerstörung des Virus erfolgt.

Nach UTECH und JOHNSON ist also das entscheidende Einteilungsprinzip die Reversibilität der Infektiositätsminderung. Ein weiteres Kriterium, nämlich die serologische Aktivität, d. h. die Fähigkeit des Virus, nach infektiositätsmindernden Behandlungen noch mit seinem spezifischen Antiserum sichtbar als Antigen zu reagieren, wird jedoch noch von JOHNSON außer acht gelassen. PFANKUCH und KAUSCHE (1938) erkennen die Wichtigkeit dieses Kriteriums an, indem sie feststellen, daß sie sehr verschieden aktive, ja fast inaktive TMV-Präparate untersucht hätten; das Trübungsverhalten war bei beiden gleich, deshalb sei auch die Teilchengröße gleich. Diese Tatsachen und serologische Beobachtungen wiesen darauf hin, daß die Aktivität nicht an das Riesenmolekulargewicht als solches, sondern an eine spezifische Gruppierung im oder am Molekül gebunden sei, die ohne Änderung des Molekulargewichtes verändert werden könnte.

BAWDEN (1950) berücksichtigt nun in seinem Einteilungsschema die serologische Aktivität, indem er schreibt: „Viele Autoren haben sich bei Inaktivierungsversuchen nur auf Infektiositätstests verlassen und nehmen den Verlust der Infektiosität als synonym an mit der Destruktion des Virus. Diese Ansicht ist oft ungerechtfertigt, denn drei verschiedene Arten der Reaktion bei Infektiositätsverlust können unterschieden werden“:

1. Inhibition oder Neutralisation der Infektiosität: sie ist leicht reversibel, serologische Aktivität unverändert.
2. Irreversible Inaktivierung ohne Zerstörung der Partikeln. Die serologische Aktivität und viele charakteristische Eigenschaften werden beibehalten.
3. Irreversible Inaktivierung oder Denaturierung mit Zerstörung der Partikeln. Die serologische Aktivität und alle anderen charakteristischen Eigenschaften gehen verloren.

Bawden betont aber ausdrücklich, daß sich nicht jeder infektiositätsmindernde Stoff klar in dieses Schema einfügen läßt, indem er feststellt: Es können keine scharfen Unterscheidungen getroffen werden, da manche Behandlungsarten auf mehr als nur einem Wege wirken und außerdem auf ein Virus auf die eine und auf das andere Virus auf die andere Art wirken.

Gupta und Price (1952) sprechen in ihren Arbeiten über die Einwirkung von Pilzfiltraten und -extrakten auf verschiedene Viren stets von Inhibitoren, jedoch bei Versuchen zur Feststellung der Reversibilität der Hemmung von Reaktivierung.

Meines Erachtens kann aber, schon rein sprachlich gesehen, die Reaktivierung nur einer vorhergehenden Inaktivierung gegenübergestellt werden oder aber folgerichtig eine Hemmung (inhibitio) einer Enthemmung. Da das aber sprachlich keine besonders glückliche Lösung wäre und andererseits das Schema von Johnson, wo nur reversible Inaktivierung und irreversible Destruktion unterschieden werden, das Kriterium der serologischen Aktivität noch nicht berücksichtigt, wäre es gut, beide Einteilungsschemen zu vereinigen.

Deshalb wird in der vorliegenden Arbeit, soweit das möglich ist, unterschieden:

1. Reversible Inaktivierung: Die Infektiosität des Virus kann wiederhergestellt werden, die serologische Aktivität ist unbeeinflußt.
2. Irreversible Inaktivierung: Die Infektiosität des Virus kann nicht wiederhergestellt werden, die serologische Aktivität ist unbeeinflußt.
3. Destruktion: Das Molekül ist soweit zerstört, daß alle wesentlichen Eigenschaften, einschließlich der serologischen Aktivität, verlorengegangen sind.

2. Der Boden als Summe aktivitätsbeeinflussender Faktoren bei der Bodenübertragung des Tabakmosaikvirus (TMV)

Die Übertragung des Tabakmosaikvirus wurde, insbesondere im Hinblick auf die Bodenübertragung, von Johnson und Ogden (1929) genauer untersucht. Sie stellten fest, daß das TMV in lebendem und totem Pflanzenmaterial lange Zeit haltbar ist. Die Bodenübertragung des TMV ließ sich gut nachweisen durch Abreibungen einer bestimmten Zahl von Tabakpflanzen (*Nicotiana tabacum*) mit Bodenproben, die von solchen Feldern oder Gewächshäusern stammten, wo im vorhergehenden Jahr angebauter Tabak stark mosaikverseucht war. Die systemisch infizierten Tabakpflanzen wurden jeweils ausgezählt. Die Infektion war besonders zurückzuführen auf Rückstände von Wurzeln und Stengeln, die auch für die so entscheidende Saatbeetinfektion verantwortlich sind, während nach ihren Versuchen die Blätterrückstände nicht so stark zur Bodenverseuchung beitragen.

Wurden die Bodenproben vor der Verimpfung gedämpft, erfolgte keine Infektion.

Zur genauen Feststellung von Bedingungen, unter denen das Tabakmosaikvirus seine Aktivität ganz oder zumindest teilweise verliert, setzen sie verschiedene Bodenproben verschiedensten Bedingungen aus, nachdem sie vorher bestimmte Mengen TMV-Preßsaft in diese Bodenproben gebracht hatten.

Dabei stellte sich heraus, daß die Aktivität des TMV in Böden mit guten Feuchtigkeits- und Belüftungsverhältnissen zerstört wurde, insbesondere war das der Fall bei Feinsand, grobem Sand und sandigem Lehm.

Bei Überflutung von Boden mit eingebrachtem TMV-Preßsaft erfolgte niemals eine Minderung der Aktivität, ebenfalls wirkte Trockenheit des Bodens nicht aktivitätsmindernd. Demgegenüber wirkte die Lüftung oder direkte Sauerstoffzufuhr auf TMV-Preßsäfte ohne jeden Bodenzusatz inaktivierend, während gute Feuchtigkeitsverhältnisse bei Zusatz von sterilisierten TMV-Zubereitungen zu sterilem Boden keine wesentliche aktivitätsmindernde Wirkung zeigten.

Die Autoren schließen daraus, daß Feuchtigkeit und Belüftung, insbesondere in den Böden mit hohem Sandanteil, nicht direkt zerstörend auf das TMV wirken, sondern indirekt, indem gute Feuchtigkeits- und Belüftungsverhältnisse die Tätigkeit der Bodenmikroben fördern. JOHNSON und HOGGAN (1937) kommen auf Grund ähnlicher Versuche zu derselben Ansicht.

Die biologische Aktivität des Bodens und damit die Zerstörung des TMV im Boden wird also gefördert durch:

Belüftung,
lockere Bodenstruktur,
gute Feuchtigkeit.

Beide werden gehemmt durch:

Anaerobe Verhältnisse,
feste Lagerung der Bodenteile,
Extreme Trockenheit oder extreme Feuchtigkeit.

Jeder dieser genannten Faktoren wirkt aber allein nicht optimal, sondern erst ihr Zusammenwirken entscheidet über die biologische Aktivität des Bodens und damit auch seine inaktivierende Kraft gegenüber dem TMV.

3. Physikalische aktivitätsbeeinflussende Faktoren

a) Hohe Temperaturen

Die Inaktivierungstemperatur, bestimmt durch zehn Minuten lange Einwirkung der betreffenden Temperatur auf Preßsäfte, liegt bei den pflanzenpathogenen Viren zwischen 42 ° C (Bronzefleckenkrankheit der Tomate) und 92 ° C (TMV). Von BAWDEN (nach KLINKOWSKI 1949) werden die Inaktivierungstemperaturen u. a. der folgenden wichtigen Viren angeführt:

Tabakmosaik-Virus	90 ° C,
Tabaknekrose-Virus	90 ° C,
Kartoffel-X-Virus	66 ° C,
Bohnenmosaik-Virus	57 ° C,
Kartoffel-Y-Virus	52 ° C.

Die Inaktivierungstemperatur ist je nach Wirtspflanze beim gleichen Virus verschieden und schwankt z. B. beim Gurkenmosaikvirus zwischen 55 ° und 70 ° C (Bawden (1950). Sie schwankt auch je nach der Herkunft des Preßsaftes aus den verschiedensten Pflanzenteilen. Fulton stellte 1941 fest, daß sowohl die Inaktivierungstemperatur, als auch die Infektiosität verschieden sind, je nachdem ob Wurzel- oder Blattpreßsäfte der gleichen Pflanze verwendet wurden, und kam zu folgenden verschiedenen Inaktivierungstemperaturen:

Virus	Blattextrakt	Wurzelextrakt
TM	92 ° C	84 ° C
Gurkenmosaik	72 ° C	67 ° C
Tabak-Ringfleckenmosaik	64 ° C	59 ° C
Tabakätzmosaik (= severe etch)	60 ° C	57 ° C

Es herrschen also Unterschiede von 3 bis 8 ° C!

Außer der Wirtspflanze und der Herkunft aus einem bestimmten Organ ist noch besonders der pH-Wert der Präparierung von großem Einfluß.

Z. B. ist das TMV bei pH 7 schon nach zehn Minuten Einwirkung von 75 ° C völlig inaktiv, während es bei pH 5,5 nach zehn Minuten Einwirkung von 90 ° C noch nicht völlig inaktiviert wird. Dabei ist es Ansichtssache, ob die Hitzeresistenz des Virus durch Alkali abnimmt oder die alkalische Inaktivierung durch Hitze zunimmt (Bawden 1950). Zwischen dem Feuchtigkeitsgehalt des virusenthaltenden Materials und der Inaktivierungstemperatur scheint nach Mulvania (1926) kein Zusammenhang zu bestehen.

Beim TMV und auch beim X-Virus der Kartoffel hängt das Nachlassen der Infektiosität eng mit einer Denaturierung zusammen, denn erhitzte TMV-Präparierungen verlieren auch meistens selten mehr Infektiosität als auf Grund der Messung der Menge des gebildeten denaturierten Proteins erwartet werden darf. Bei solchen Denaturierungen ist in dem kritischen Bereich die Zunahme der Inaktivierungsrate mit relativ kleiner Zunahme der Temperatur so groß, daß Variationen anderer Faktoren, wie der Virusgehalt des Saftes oder die Empfänglichkeit der Wirtspflanze, unwichtig sind, der Temperaturbereich, in welchem die Infektiosität sehr schnell verlorengeht, ist sehr eng.

Bei anderen Viren, wie z. B. dem Bushy stunt der Tomate und dem Tabak-Nekrose-Virus (TNV), ist der Verlust der Infektiosität nicht unbedingt mit einer Denaturierung verbunden, der Temperaturbereich, in welchem die Infektiosität sehr schnell verlorengeht, ist sehr weit und die Temperaturzunahme hat nur einen ganz wenig größeren Einfluß als andere Faktoren bei der präzisen Bestimmung des Temperatur-Inaktivierungspunktes (Bawden 1950).

Mulvania (1926) stellte fest, daß das TMV, bei 80 ° C mehr als 20 Tage aufbewahrt, keine völlige Zerstörung zeigt und die völlige Inaktivierung zwischen 88 und 90 ° C eintritt. Beim X-Virus der Kartoffel (Bawden 1950) ist die Infektiosität nach Erhitzung auf 59 ° C sehr gering, völlige Inaktivierung tritt bei 68 ° C ein, der Temperaturbereich beträgt in beiden Fällen etwa 10 ° C. Demgegenüber ist beim Bushy stunt-Virus ein Bereich von über 30 ° C

zu beobachten, in dem die Inaktivierungsrate allmählich zunimmt, wobei festzustellen ist, daß innerhalb dieses Temperaturbereiches durch die Hitzeeinwirkung keine Denaturierung erfolgt. Auf Grund des weiten Temperatur-Inaktivierungsbereiches ist es auch möglich, vom TMV und Bushy stunt-Virus Präparierungen mit keiner nachweisbaren Infektiosität herzustellen durch Erhitzung auf Temperaturen, die unterhalb des thermalen Inaktivierungspunktes liegen, z. B. einen Tag auf 50 ° C, mehrere Stunden auf 60 ° C, eine Stunde auf 70 ° C. Diese Präparierungen haben aber ihre serologische Aktivität und viele physikalische Eigenschaften beibehalten.

Die Trennung zwischen Infektiosität und serologischer Aktivität ist also bei dem Bushy stunt-Virus und TNV sehr ausgeprägt.

Bei dem TMV und dem X-Virus der Kartoffel liegt keine oder nur eine sehr schwache Trennung beider Eigenschaften vor. Z. B. wird bei Erhitzungen auf über 90 ° C die Infektiosität des TMV nur ein klein wenig stärker herabgesetzt als die serologische Aktivität. Vom X-Virus konnten bei 16stündiger Einwirkung von 50 ° C Präparierungen bei pH 6 erhalten werden, die drei Viertel der Infektiosität hatten, aber nur ein Viertel der serologischen Aktivität, völlige Trennung beider Eigenschaften wird in der Literatur aber nicht angegeben. Schließlich sei noch bemerkt, daß man meistens mit thermischen Inaktivierungsprodukten der Viren noch Kaninchen impfen kann (BAWDEN 1950), die dann schwache Antiseren gegen normales Viruseiweiß bilden. In diesen Fällen geht also die Spezifität des Virus als Antigen nicht verloren!

In der Pflanze und in Pflanzenteilen ist das Virus gegen die Einflüsse höherer Temperaturen bei weitem unempfindlicher als im Preßsaft oder in Präparierungen.

Dieser Umstand geht z. B. daraus hervor, daß das TMV in getrockneten Tabakblättern eine Erhitzung auf etwas über 100 ° C für 15 Minuten ohne Abschwächung verträgt, ja sogar 110 ° C/15 Minuten wirkten nicht völlig inaktivierend (KÖHLER und PANJAN 1943).

Nach THORNBERRY, VALLEAU und JOHNSON 1938 (zit. nach KÖHLER und KLINKOWSKI 1954) wurden in getrockneten Blättern sogar 150 ° C/10 Min. vom TMV überstanden.

Zur Bekämpfung bestimmter Virosen wird die thermale Inaktivierung in der Pflanze mit Erfolg angewendet.

WILBRINK (1923, zit. nach KÖHLER 1934) machte serehkranke Zuckerrohrstecklinge virusfrei durch halbstündiges Tauchen in Wasser von 50 ° C. KUNKEL (1936) führte Hitzebehandlungen an viruskranken Pfirsichbäumen durch. Die Vergilbungskrankheit wurde durch 24tägige Einwirkung einer Temperatur von 35 ° C geheilt. Während der Vegetationsruhe genügte ein zehn Minuten dauerndes Eintauchen ganzer Bäumchen in 50 ° C warmes Wasser, bei jungen Knospen reichte bereits ein Eintauchen von vier Minuten aus. Auch bei der Kleinfrüchtigkeit und der Rotfrüchtigkeit wurde auf diese Weise eine Heilung erzielt. Beim Virus der Rosettenkrankheit mußte die Behandlung aber bei höheren Temperaturen und über eine längere Zeit vorgenommen werden. Beschädigungen der Bäumchen traten nicht auf.

Kunkel (zit. nach Klinkowski 1953) behandelte auch die viröse Falschblütigkeit bei *Vaccinium macrocarpon* mit Wärme von 42 ° C zehn Tage lang. Die neugebildeten Pflanzenteile zeigten nicht mehr die typischen Krankheitssymptome.

Nach Thung (1952) läßt sich die Zwergkrankheit der Himbeeren durch Hitzebehandlung kleiner schossertragender Wurzelstöcke ausheilen. Die Gesundung nahm mit der Dauer der Wärmebehandlung bei 46 ° C, die bis auf 3¼ Stunden ausgedehnt wurde, anteilmäßig zu. Warmwasserbehandlung bei 45 ° C bis drei Stunden oder 50 ° C eine Stunde lang zeigte ebenfalls eine gute Heilwirkung. Allerdings waren die Verluste an Stecklingen infolge der Behandlung recht hoch, aber die überlebenden waren gesund!

Posnette (1953) führte bei drei verschiedenen Virusarten der Erdbeere (Virus 1, Virus 3 und ein bisher noch nicht beschriebenes Virus) eine hochgradige thermale Inaktivierung durch und fand als optimal die Behandlung der Pflanzen bei 37 ° C acht Tage lang mit Warmluft bei Tageslicht. Dabei erwies es sich als günstig, die Pflanzen vor der Behandlung gut einwurzeln zu lassen und die Erde während der Wärmeeinwirkung täglich zu befeuchten.

Auch bei einer Verlängerung der Behandlungszeit auf zwölf Tage oder einer Verkürzung auf fünf Tage bzw. bei 33 ° C auf sechs Tage sowie mit warmem Wasser oder im Dunklen wurde eine gewisse Inaktivierung der Virusarten in der Erdbeerpflanze erreicht, jedoch wird die oben angegebene Methode als die günstigste angesehen, obwohl einige Pflanzen bei der Behandlung abstarben.

Fulton (1952) stellte jedoch fest, daß das Erdbeervirus 2 durch Warmwasserbehandlung der Pflanzen von 5 bis 30 Minuten Dauer bei Temperaturen zwischen 35 und 48 ° C nicht inaktiviert wurde. Eine weitere Temperaturerhöhung auf 55 bzw. 65 ° C hatte den Tod der Pflanzen zur Folge.

Kassanis (1949) behandelte blattrollvirusinfizierte Knollen der Kartoffelsorten Majestic und Arran Consul 10 bis 20 Tage bei 37,5 ° C. Bei hinreichender Feuchtigkeit während der Behandlung lieferten die behandelten Knollen ausschließlich blattrollfreie Pflanzen. Gleichzeitig vorhandenes X-Virus wurde durch die Wärmebehandlung nicht beseitigt.

Thirumalachar (1954) gelang es, das Blattrollvirus in Knollen von zwei indischen Kartoffelsorten völlig zu inaktivieren durch Aufbewahrung der Knollen in strohgedeckten Hütten während des Sommers (April bis Ende September). Dabei herrschten im Mai und Juni Maximaltemperaturen von 41,7 ° C. Aus blattrollinfizierten Knollen, die bis Ende September den sommerlichen Bedingungen unterworfen wurden, entwickelten sich 100 % gesunde Pflanzen. Mit der Abkürzung der Behandlungszeit nahm der Anteil an gesunden Pflanzen progressiv ab.

Versuche von Salzmann (1948) jedoch, blattrollinfizierte Kartoffelknollen durch Wärmebehandlung bei 45 bis 55 ° C gesund zu machen, schlugen fehl.

Auch bei dem Saatgut spielt die Temperaturbehandlung eine gewisse Rolle. Nach einer Mitteilung auf der Tagung über pflanzliche Viruskrank-

heiten 1940 in Moskau werden saatgutübertragbare Virosen bekämpft, indem das Saatgut bei 6 % Wassergehalt im Thermostaten allmählich auf 90 ° C erhitzt wird. Dabei muß eine Stunde lang eine Temperatur von 85 bis 90 ° C herrschen. Beim Tabak wurden z. B. durch diese Methode 15%ige Mehrerträge erzielt.

b) Tiefe Temperaturen

Ebenso wie hohe Temperaturen ein Virus beeinflussen können, ist das auch für tiefe Temperaturen möglich. BAWDEN und PIRIE (1938) stellten fest, daß ein Gefrieren auf die Aktivität von gereinigten Lösungen des TMV und des Kartoffel-X-Virus keine Wirkung hatte, während das Bushy stunt-Virus der Tomate durch Gefrieren unter den gleichen Bedingungen denaturiert wurde. Das Bushy stunt-Virus wurde weiterhin besonders gründlich untersucht. STANLEY (1940) stellte fest, daß das Gefrieren von Bushy stunt-virushaltigen Blättern keine Inaktivierung verursacht.

BAWDEN und PIRIE kamen 1942 bei Untersuchungen mit gereinigten gefrorenen Lösungen des Virus zu sehr verschiedenen Ergebnissen, was wohl mit dem Zustand der Flüssigkeit in Zusammenhang zu bringen ist. Bei diesem Virus nimmt die inaktivierte oder genauer die denaturierte Menge zu mit zunehmender Konzentration des Virus in der gefrorenen Lösung, ebenso durch Zusatz von Säure und durch Verlängerung der Zeit, während der die Flüssigkeit eingefroren gehalten wurde.

Das Virus wird gegen die inaktivierende Wirkung der tiefen Temperatur geschützt durch die Gegenwart von Glukose, Proteinen, Salzen oder anderen Substanzen. Bei den Salzen ist die Schutzwirkung deutlich abhängig von der eutektischen Salz- : Eis- : Wasser-Temperatur; solche mit einer hohen eutektischen Temperatur üben keine Schutzwirkung aus, wenn das Gefrieren bei einer niedrigen Temperatur ausgeführt wird. Salze, Zucker oder Kolloide ergänzen also die anderen Schutzeigenschaften im Saft.

Der Verlust der Infektiosität ist von einem entsprechenden Nachlassen der serologischen Aktivität und einer Präzipitation des denaturierten Proteins begleitet.

BAWDEN (1950) kommt zu dem Schluß, daß die Inaktivierung des Bushy stunt-Virus durch Gefrieren oder Erhitzen ein komplexer Prozeß sei, wobei der Verlust der Infektiosität hervorgerufen wird durch den ersten Wechsel, so daß gefrorene Proben weniger infektiös sind, als auf Grund des Serumtiters erwartet werden kann. Gelegentlich können nämlich völlig nichtinfektiöse Präparierungen mit voller serologischer Aktivität hergestellt werden durch Gefrieren von 0,2%igen Bushy stunt-Virus-Lösungen bei pH 4,25 für zwei Stunden bei — 10 ° C.

Das Tabak-Ringfleckenmosaik-Virus verhält sich nach Feststellungen von STANLEY (1939) beim Gefrieren in vielem genau so wie das Bushy stunt-Virus. Wenn seine gereinigten Präparierungen gefroren und aufgetaut werden, sind sie inaktiviert, und 75 % des ursprünglichen Materials trennen sich als Präzipität ab. Auch diese Inaktivierung wird verhütet durch die Gegenwart von Salzen oder anderen Materialien des Pflanzensaftes.

Price (1938) untersuchte das Tabaknekrose-Virus in gereinigten Lösungen und stellte ein sehr unterschiedliches Verhalten fest. Nach Gefrieren geht die Infektiosität der Lösungen verloren, die Präzipitabilität mit Antiserum wird herabgesetzt, insbesondere bei Antigenüberschuß. Ebenso ist die schwache Opaleszenz wie bei unbehandelten Lösungen nicht mehr zu beobachten.

Bawden und Pirie (1950) untersuchten das TNV in Blättern und kamen zur Feststellung, daß zerkleinerte gefrorene Blätter infektiöser sind als unzerkleinerte und nicht gefrorene Kontrollblätter. Sie nehmen an, daß durch das Zerkleinern ein Mechanismus in Gang gesetzt wird, der das Virus besonders aktiviert.

Allgemein ist also zu sagen, daß eine Inaktivierung durch Gefrieren beim TMV nicht festgestellt wurde. Bei anderen Viren kann das Gefrieren auf gereinigte Lösungen inaktivierend wirken, während tiefe Temperaturen das Virus im Blatt auf Grund der im Pflanzensaft vorhandenen Salze, Kolloide und weiteren Schutzstoffe wenig zu beeinflussen scheinen.

c) Trocknung

Die Trocknung von TMV wird allgemein als ohne Einfluß auf die Infektiosität geschildert. Aber nach Wiederauflösen getrockneter Viruspräparierungen ist deren Infektiosität ebenso wie die Doppelbrechung der Lösungen reduziert und das serologische Verhalten verändert. Wiederholte Trocknung und Wiederauflösung beeinflußten die Eigenschaften immer weiter (Bawden 1950).

Bawden und Pirie (1937) fanden, daß eine Präparierung, die bei 1,8 % flüssig kristallin war, die Hälfte ihrer Infektiosität nach einer Trocknung und Wiederauflösung verlor und erst bei 5,4 % die Spur einer flüssig kristallinen Schicht gab. Nach insgesamt sechs Trocknungen war die Infektiosität auf etwa 1 % der Ausgangsinfektiosität herabgesetzt. Bei Trocknung in Blättern oder Saft wurde festgestellt, daß die meisten anderen Viren inaktiviert werden (Bawden 1950). Viruspräparationen scheinen besonders empfindlich gegen Trocknung zu sein. Allgemein stellte Bawden fest, daß diese eine stärkere Herabsetzung der Infektiosität als der serologischen Aktivität aufweisen, aber die Wirkung der Trocknung hängt stark davon ab, ob Präparationen von flüssigem oder gefrorenem Material verwendet wurden. Nach Untersuchungen von Mc Kinney (1947) ist die Geschwindigkeit des Trocknungsprozesses von ausschlaggebender Bedeutung. So wurden in zerkleinerten Blattstücken sehr empfindliche Viren wie das Gurkenmosaik, Tabakringfleckenmosaik, Kartoffel-Y und Tabakätzmosaik bei 1° C sehr schnell getrocknet, und das Material blieb für mehr als ein Jahr infektiös, wenn es unter feuchtigkeitsfreien Bedingungen aufbewahrt wurde.

Wurden demgegenüber Kartoffel-X-Virus-haltige Blätter und Säfte langsam getrocknet, so ging die Infektiosität verloren.

Bei gere[illegible]en X-Viruspräparierungen entsteht durch Trocknung etwas unlösliche Substanz in Form von denaturiertem nukleinsäurefreiem Material. Die Menge des denaturierten Proteins hängt von dem pH-Wert der Lösun-

gen ab. So ist bei pH 6 über die Hälfte der Präparierungen denaturiert und damit inaktiviert, bei pH 4 und pH 8 mehr als 90 %. Dabei kann aus den Lösungen des getrockneten Materials durch Ultrazentrifugierung vollständig aktives Virus wiedergewonnen werden (BAWDEN 1950).

Tabaknekroseviren werden durch Trocknung von Saft nicht inaktiviert, jedoch durch Trocknung von gereinigtem Material (BAWDEN 1950).

Das Bronzefleckenvirus der Tomate läßt sich nur auf dem Wege der Gefriertrocknung von zerkleinertem Blattmaterial (Einfrieren bei — 20 ° C, Trocknen bei — 30 ° C) trocknen. Trocknung bei 0 ° C zerstört das Virus (BEST und GALLUS 1953).

d) Verdünnung

Die Verdünnung wirkt auf das Virusmolekül selbst nicht inaktivierend, sondern lediglich die verdünnte Lösung hat keine nachweisbare Infektiosität mehr, da die Menge der Virusteilchen, also die Infektionsmasse, so gering ist, daß sie den Infektionsschwellenwert unterschreitet und somit die Infektion nicht zum Haften kommt.

Die Verdünnungsendpunkte der Viren, das sind die Verdünnungen, die gerade noch eine Infektion hervorrufen, sind schon allein aus dem Grunde, daß jedes Virus nur eine bestimmte Höchstkonzentration in der Pflanze erreichen kann, sehr verschieden.

Beim TMV, dem infektiösesten pflanzenpathogenen Virus, genügen (STANLEY, zit. nach FREI 1938) 300 Moleküle/ccm, um noch eine Infektion zu bewirken; der Verdünnungsendpunkt im Saft wurde in günstigen Fällen mit 1 : 1 000 000 festgestellt und ist der höchste überhaupt für phytopathogene Viren beobachtete.

Den niedrigsten festgestellten Verdünnungsendpunkt hat das Kartoffel-Aukubamosaik-(F)-Virus mit 1 : 100 (BAWDEN nach KLINKOWSKI 1949). Die Verdünnungsendpunkte anderer Viren liegen zwischen diesen Werten, z. B.:

Tabaknekrosevirus	1 : 100 000
Kartoffel-X-Virus	1 : 100 000
Rüben-Kräuselschopf-Virus	1 : 20 000
Kartoffel-Y-Virus	1 : 1 000
Bohnenmosaikvirus	1 : 1 000

Außerdem ist noch zu erwähnen, daß durch Verdünnung vielfach die Wirkung anderer Inaktivatoren aufgehoben werden kann, was eventuell erklärbar ist mit einer Spaltung von Inaktivator-Virus-Komplexen unter Freigabe von Virusteilchen (BAWDEN 1950).

e) Zeit

Der Zeitfaktor spielt eine große Rolle bei der Haltbarkeit von Viren in Blättern, im Saft oder in Präparierungen. Die Inaktivierung nach längerer Aufbewahrung scheint in gereinigten Lösungen nicht so schnell vor sich zu gehen wie im Saft, von dem nichtinfektiöse kristalline Nukleoproteide isoliert

werden können, die in ihren sonstigen Eigenschaften nicht unterscheidbar sind von normalen Viruspräparierungen.

Die Haltbarkeit im Saft hat allerdings, ebenso wie der thermale Inaktivierungspunkt, für viele Viren geringe diagnostische Bedeutung, da ungewiß ist, ob die Inaktivierung sich durch innere Instabilität der Virusteilchen oder aber durch die im Saft vorliegenden Bedingungen ergibt, z. B. kann sie bedingt sein durch Absorbierung unter Bildung präzipitierender Proteine oder durch irgendwelche inneren Veränderungen im Saft (Bawden 1950).

Die Haltbarkeit von Viren in vitro kann schwanken zwischen wenigen Stunden (z. B. Bohnenmosaikvirus 48 Stunden) und Jahren (TMV). Als Beispiele der Haltbarkeit in vitro seien wieder die bereits bei dem Verdünnungsendpunkt erwähnten Viren herausgestellt (Bawden nach Klinkowski 1949):

Kartoffel-X-Virus	Monate
Tabaknekrosevirus	Wochen
Rüben-Kräuselschopf-Virus	Wochen
Kartoffel-Aukubamosaik-(F)-Virus	3 Tage
Kartoffel-Y-Virus	2 Tage

Besonders genau wurde die Haltbarkeit des TMV in Pflanzenteilen und im Saft geprüft.

Johnson und Ogden (1929) stellten, wie schon erwähnt, die Bodenübertragung des TMV durch Wurzel- und Stengelrückstände und Preßsäfte besonders in sehr nassen oder sehr trockenen und schlecht belüfteten Böden fest.

Went (1937) verimpfte TMV-Extrakte in verschiedenen Verdünnungen nach 144 und 270 Tagen Aufbewahrung, ohne eine Infektiositätsabnahme, geprüft an der Läsionszahl, zu beobachten.

Johnson und Valleau (1940) fanden TMV in getrockneten Blättern noch nach 52 Jahren infektionsfähig. Saft erlitt bei einer 15jährigen Aufbewahrung unter Zusatz von 2,5 % Benzol oder 1,75 % Xylol nur eine 33- bis 40%ige Minderung der Viruskonzentration, d. h. der Infektiosität.

Utech und Johnson (1950) bewahrten Preßsaft zwei Jahre im Kühlschrank auf, ohne daß sich eine Minderung der Infektiosität ergab.

Sigurgeirsson und Stanley (1947) untersuchten die Längenverteilung der TMV-Moleküle in verschieden altem Preßsaft und stellten diese in Kurvendiagrammen dar. Bei frischem Preßsaft haben die meisten Teilchen eine Länge um 280 mμ. Nach einem Tage Aufbewahrung bei 4 ° C taucht neben der Kurvenspitze um 280 mμ noch eine kleine Spitze bei etwa 600 mμ auf, das sind also einige wenige Teilchen mit der doppelten Länge. Nach 20 Tagen Aufbewahrung bei 4 ° C sind deutlich mehr Teile um 600 als um 280 mμ wahrzunehmen. Die Autoren bemerken, daß diese Molekülaggregate von etwa 600 mμ Länge bei bestimmten Präparierungsverfahren, z. B. der Ultrazentrifugierung, sehr leicht in viele kleine Teile unter 280 mμ zerfallen können, die nach ihren Versuchen nicht infektiös sind. Die Präparierungen weisen dann eine geringere Infektiosität als die Ausgangslösungen auf.

f) Druck

Hoher Druck inaktiviert TMV und ähnelt in mancher Hinsicht der Erhitzungswirkung (BAWDEN 1950).

BASSET u. a. (1938) stellten fest, daß ein Druck von 6000 Atü keine Wirkung auf die Infektiosität und das kristalline Verhalten von TMV-Lösungen hat. Über 8000 Atü werden beide Eigenschaften zerstört. Zwischen 6000 und 8000 Atü trennt sich ein Koagulat nukleinsäurefreien Proteins von den behandelten Lösungen ab, bei höherem Druck bleiben die Denaturierungsprodukte jedoch in Lösung. Die Denaturierungsrate ist nach LAUFFER und DOW (1941) proportional zur Viruskonzentration.

Bei Druckbehandlung des X- und Y-Virus der Kartoffel geht die Infektiosität etwas eher verloren als die serologische Aktivität, so daß es also manchmal nichtinfektiöse Präparierungen gibt, die noch eine, wenn auch geringere, serologische Aktivität haben (BASSET u. a. 1938).

g) Bestrahlung

Bei Ultraviolett- und X-Strahlen (Röntgenstrahlen) ist der Verlust der Infektiosität der Viren proportional zur Länge der Bestrahlung, wie LEA und SMITH (1940) bei Untersuchungen mit dem TMV, dem TNV und dem Bushy stunt-Virus der Tomate in den verschiedensten Zubereitungsarten feststellten.

Bei der Bestrahlung erfolgen nachgewiesenermaßen hydrolytische und oxydative Wechsel. Trotzdem geht die Inaktivierung bei Ultraviolett- und X-Bestrahlung ohne Beeinflussung der serologischen Aktivität und anderer Eigenschaften vor sich, bei TMV-Präparierungen z. B. ohne Veränderung der Anisotropie, der Fähigkeit flüssig-kristalline Lösungen bei genügender Konzentration zu bilden oder bei Säure- bzw. Salzzusatz para-kristalline Gebilde entstehen zu lassen. Nach Feststellungen von STANLEY (1936) ist bei Ultraviolett-Bestrahlung auch der isoelektrische Punkt des TMV unbeeinflußt, ebenso die Stäbchenlänge der Moleküle.

Der Verlust der Infektiosität bei Bestrahlung ist von den verschiedensten Faktoren abhängig, insbesondere von der Wellenlänge der Strahlen und dem pH-Wert der Lösung. HOLLAENDER und DUGGAR (1936) kamen zu dem Ergebnis, daß die Wellenlängen am stärksten zerstörend wirken, die am stärksten von den Viruslösungen absorbiert werden. Wellenlängen über 300 mμ zeigten geringe inaktivierende Wirkung. Bei Wellenlängen um 260 mμ, wo die Purine und die Nukleinsäuren starke Absorption der Strahlen zeigen, nimmt die inaktivierende Wirksamkeit zu. Bei Wellenlängen unter 260 mμ herrscht allgemeine Absorption durch die Proteinbestandteile des Virus, und die Inaktivierung des Virus ist noch bedeutender.

Nach BAWDEN (1953) inaktiviert ultraviolettes Licht auch das TMV in den Epidermiszellen der Tabakpflanze, wenn die Bestrahlung spätestens 18 bis 24 Stunden nach der Preßsaftabreibung erfolgt.

Bei pH 2,2, einem Wert, der auf der sauren Seite des isoelektrischen Punktes liegt, ist die Empfindlichkeit von TMV-Präparierungen gegenüber X-Strahlen besonders groß (MARSHAK und TAKAHASHI 1941).

Gowen und Price (1936) und Bawden und Pirie (1937) (beide zit. nach Kausche und Stubbe 1938) teilten mit, daß das TMV und das Kartoffel-X-Virus mit ultraviolettem Licht und Röntgenstrahlen inaktiviert werden können. Viruslösungen und Trockenpräparate konnten in gleicher Weise apathogen gemacht werden. Nach dreistündiger Röntgenbestrahlung (30 kV und 20 mA) sank die Aktivität auf 1 % der Aktivität der Ausgangslösung und war nach siebenstündiger Bestrahlung völlig zerstört.

Im Gegensatz zu den genannten Inaktivierungsuntersuchungen durch Röntgenbestrahlung kamen Kausche und Stubbe (1938) zu dem Ergebnis, daß das TMV durch Röntgenbestrahlung (115 kV, 10 mA, Filter 10 mm Al) besonders aktiviert wird bei steigenden Dosen von 5000, 10 000, 12 000, 14 000, 18 000 und 19 000 r. Dabei lag im Falle der letzten Dosis von 19 000 r die aktivierende Wirkung gegenüber den anderen Dosen am niedrigsten, jedoch zeigte sie immer noch eine stärkere Aktivität als die unbehandelte Kontrolle. γ-Strahlen eines Mesothoriumpräparates mit der Strahlungsintensität eines 1 mg Ra-Elements wirkten ebenfalls aktivierend auf das TMV. Z. B. zeigte sich nach zwei Stunden Bestrahlung eine Zunahme der Läsionen auf *Datura stramonium* auf fast das Dreifache (Kausche 1938).

Dieselben Verfasser kamen auch zu Mutationen bei Virusstämmen durch Röntgenstrahlen.

Für die Ergebnisse über die besondere Aktivierung des TMV führen sie folgende Deutungsmöglichkeiten an:

1. Bildung kleiner Einzelmoleküle (diese sind aber nach Sigurgeirsson und Stanley 1947 nicht mehr infektionsfähig!).
2. Vermehrung der biologisch aktiven Gruppen im oder am Molekül durch Jonisation oder Elektronendurchgang.
3. Oberflächenvergrößerung durch Desaggregation von Molekülaggregaten.

Meines Erachtens sind die Versuche damit zu erklären, daß die von Gowen und Price (1936) sowie Bawden und Pirie (1937) verwendete Dosis höher lag als bei Kausche und Stubbe 1938. Sie lassen einen Vergleich mit der Arndtschen Regel zu, nach der kleine Mengen bestimmter Reizstoffe stimulierend, mittlere Mengen schädigend und große Mengen tötend auf einen Organismus wirken.

Zum Schluß sei noch erwähnt, daß nach Mulvania (1926) auch direktes Sonnenlicht die Aktivität von TMV-Preßsäften bei 36 Stunden Einwirkung zu 96 % zerstört.

h) Ultraschall und Ultrazentrifuge

Ultraschall und Ultrazentrifugierung wirken insbesondere beim TMV in der gleichen Richtung, indem sie eine starke Partikelspaltung hervorrufen. Die serologische Aktivität wird dabei nach Bawden (1950) beeinflußt, indem die Präzipitation langsamer vor sich geht und bei Antigen-Überschuß teilweise gehemmt ist.

MALKIEL (1947) zeigte aber, daß die gespaltenen Teilchen sich nicht mehr Antikörpern kombinieren als die unbehandelten Teile; er fand aber keinen Beweis für irgendeine Bildung einer neuen Antigengruppe durch die Behandlung.

Nach TAKAHASHI und CHRISTENSEN (1934) und STANLEY (1934) ist bei Zerstörung der Infektiosität des TMV durch Ultraschall die serologische Aktivität unverändert.

STANLEY (1934) stellte in bezug auf die Infektiosität fest, daß die Inaktivierung nur durch die indirekte Wirkung eines bei der Ultraschallbehandlung frei werdenden Gases erfolgt. Bei Beschallung im Vakuum blieb die Infektiosität nämlich völlig erhalten.

KAUSCHE, PFANKUCH und RUSKA (1941) fanden bei Beschallung von TMV-Präparierungen eine Zunahme der kleinen Teilchen, die eine Änderung der optischen Eigenschaften der Flüssigkeit bewirkt.

OSTER (1947, zit. nach TAKAHASHI 1949) untersuchte die Größenverteilung elektronenmikroskopisch. Die typischen Partikeln von 280 mμ Länge wurden in Teile von 1/2, 1/4 und 1/8 der normalen Länge gespalten. Die kleinsten Teilchen waren 35 mμ groß. Mit der Abnahme der Teilchengröße war eine irreversible Herabsetzung der Infektiosität festzustellen.

Der Autor ist auf Grund seiner Versuchsergebnisse der Meinung, daß die Teile unter 280 mμ nicht infektiös sind, was durch die Untersuchung von SIGURGEIRSSON und STANLEY (1947), die im Zusammenhang mit der Haltbarkeit der Viren im Preßsaft besprochen wurden, bestätigt wird.

NEWTON und KISSEL (1953) erreichten bei höheren Ultraschallintensitäten ebenfalls eine Spaltung des TMV-Einzelmoleküls in Teile von 30 bis 40 mμ Länge. Jedoch konnten sie in ihren Versuchen die Teilung der Partikel in Teile von 1/2, 1/4 und 1/8 der normalen Länge nicht bestätigen, sondern stellten fest, daß die Teilchen vorwiegend in einer Entfernung von 175 bis 205 mμ von einem Ende durchbrechen.

Bei Suspensionen monomerer TMV-Stäbchen nahm die Inaktivierungsrate mit steigenden Ultraschallgaben zu. Bei alten TMV-Suspensionen wurde bei schwacher Ultraschallbehandlung zuerst ein Anstieg der Infektiosität (Stimulierung) festgestellt, nach 15 Minuten eine starke Inaktivierung und nach 30 Minuten eine erneute Stimulierung, was auf die Spaltung von Molekülaggregaten zurückgeführt wird.

Bei sehr starker Ultraschallbehandlung wurde eine 95%ige Inaktivierung des TMV erreicht.

Zu erwähnen ist noch, daß bei Ultrazentrifugierung durch Alkalizusatz die kleinen Fraktionen besonders stark zunehmen (ERIKSSON-QUENSEL und SVEDBERG 1936, WYCKOFF 1937, SCHRAMM und WIEDEMANN 1951).

i) Elektrische Ladung

BAWDEN kommt 1950 zu der Annahme, daß es, wider Erwarten, eine allgemeine Eigenheit aller Substanzen mit den Viren entgegengesetzter elek-

trischer Ladung zu sein scheint, eine geringe Hemmwirkung gegenüber dem TMV zu haben.

Allgemein dürfte aber die elektrische Ladung nach den bisherigen Feststellungen wohl keinen allzu großen Einfluß auf die Aktivität eines Inaktivators haben, wobei die Feststellungen allerdings vielleicht durch die bisherigen Präparierungsmethoden bedingt sind. Denn der isoelektrische Punkt des TMV z. B. ändert sich ja nach STANLEY (1936) durch Zusatz von salpetriger Säure oder Formaldehyd zur sauren Seite. Durch Ultraviolettbestrahlung wird er jedoch nicht beeinflußt.

4. pH-Wert und Pufferung als aktivitätsbeeinflussende Faktoren

Wie schon erwähnt, ist der pH-Wert von großem Einfluß auf viele andere Inaktivierungsfaktoren, insbesondere auf die thermische Inaktivierung. Dabei ist es, wie bereits gesagt, Ansichtssache, ob die Hitzeresistenz eines Virus durch Alkali herabgesetzt wird, oder ob die alkalische Inaktivierung durch Hitzeeinfluß zunimmt.

Nach FRASER und JOHNSON (1949) wird auch die Wärmedenaturierung des TMV bei Drucken von 1 bis 680 Atü durch den pH-Wert und die Pufferkonzentration beeinflußt.

Auch bei der Trocknung von Viren und der Ultrazentrifugierung (siehe dort) spielt der pH-Wert der betreffenden Viruslösung eine Rolle.

Wiederholtes Gefrieren und Auftauen des TMV ist bei neutraler Reaktion ohne jeden Einfluß, bei pH 3 aber gehen Infektiosität und serologische Aktivität verloren (BAWDEN 1950). Ebenso wurde schon erwähnt, daß nach MARSHAK und TAKAHASHI (1941) die Empfindlichkeit gegenüber Röntgenstrahlen bei pH 2,2 (saure Seite des isoelektrischen Punktes) besonders groß ist.

Als Beispiel für den Zusammenhang zwischen dem pH-Wert und der Inaktivierung durch Chemikalien sei nur genannt, daß 2%ige Formalinlösung bei allen pH-Werten zwischen 3 und 7,5 inaktivierend wirkt. Die Inaktivierungsrate ist aber bei pH 3,5 minimal (KASSANIS und KLECZKOWSKI 1944).

Über den direkten Einfluß von bestimmten pH-Werten ist folgendes zu sagen (BAWDEN, 1950): Ähnlich anderen Proteinen sind Viren über nur einen begrenzten pH-Bereich stabil. Die verschiedenen Viren werden bei verschiedenen pH-Werten inaktiviert, wobei sie nur in ihrer Resistenz gegenüber Säure mehr variieren als gegenüber Alkali.

Zum Beispiel werden inaktiviert:

Kartoffel-Y-Virus unter pH 4,5,
Kartoffel-X-Virus unter pH 4,0.

TMV und Bushy stunt-Virus sind dagegen stabil bis unterhalb pH 2.

Bei Säurebehandlung von Viren scheint die Infektiosität die erste Eigenschaft zu sein, die verlorengeht; und der Verlust der Infektiosität ist eng verbunden mit einer Spaltung der Partikeln und dem Verlust der serologischen Aktivität (BAWDEN 1950).

Das Verhalten des im Rahmen dieser Arbeit besonders interessierenden TMV wurde von vielen Autoren untersucht.

Es scheint gegenüber Alkali nicht resistenter zu sein als viele andere Viren, wobei aber die Autoren verschiedene Werte für den pH-Bereich angeben, in dem eine Inaktivierung festzustellen ist. Nach BEST (1936) beginnt über pH 7,8 ein Nachlassen der Infektiosität. Die Menge des TMV, die in zwölf Stunden bei Raumtemperatur inaktiviert wurde, nahm zu mit steigendem pH, bis bei pH 10,2 mehr als 99 % inaktiviert waren.

BAWDEN und PIRIE (1940) dagegen fanden ihre Präparationen resistenter gegen Alkali und behaupteten, daß Werte um pH 10 notwendig sind, um eine merkliche Inaktivierung hervorzurufen, was eventuell durch Verwendung anderer Stämme und Präparierungsmethoden zu erklären sein soll. Es ergab sich keine strenge Übereinstimmung zwischen Infektiosität und serologischem Verhalten bei der pH-Behandlung der TMV-Präparierungen. Z. B. war bei pH 10,5 ein starkes Nachlassen der Infektiosität ohne ein entsprechendes Fallen der serologischen Aktivität zu beobachten, während bei pH 11 keine Infektiosität, aber noch einige serologische Aktivität vorlag. Bei pH 9,3 ergab sich sogar eine Zunahme der Infektiosität über die Kontrolle hinaus, was damit erklärt wird, daß eine milde Alkalibehandlung zu einer Desaggregierung der langen Teilchen führt.

Die Autoren betonen, daß solche Aktivitätserhöhung auf Grund der Desaggregierung von langen Teilchen durch Alkali jede kleine Wirkung anderer Inaktivatoren, die gleichzeitig geschieht, maskieren kann. Sie kommen zu dem Schluß, daß Alkali letzten Endes auf gereinigte Präparierungen von TMV folgende Wirkungen haben kann:

1. Desaggregierung in kleinere aktive Teile.
2. Wechsel innerhalb der Partikeln, der sie nichtinfektiös macht, ohne ihre Struktur oder serologischen Eigenschaften zu zerstören.
3. Spaltung der Partikeln, die zum Verlust aller charakteristischen Eigenschaften führt. Dieses Stadium ist auch von der Temperatur beeinflußt, indem bei niedrigen Temperaturen die denaturierten Produkte löslich bleiben, während sie bei hohen Temperaturen präzipitieren.

Die Aktivitätserhöhung des TMV durch eine bestimmte alkalische Reaktion kann meines Erachtens auch nur dann stattfinden, wenn Teile über 280 mμ zur normalen Länge desaggregiert werden, denn wie bereits erwähnt, bewiesen SIGURGEIRSSON und STANLEY (1947), daß Teile unter 280 mμ nicht infektiös sind.

Die Versuche rufen die schon besprochenen Ergebnisse von KAUSCHE und STUBBE (1938) über die aktivitätsfördernde Wirkung von Röntgenstrahlen bei TMV ins Gedächtnis zurück.

Auch SCHRAMM (1947) und SCHRAMM und WIEDEMANN (1951) wiesen mit Hilfe des Elektronenmikroskops und der Ultrazentrifuge nach, daß das TMV

in alkalischer Lösung quer zur Längsachse spaltet und sich Bruchstücke unter 280 mμ ergeben.

So zeigte z. B. die Kurve der Längenverteilung unter Einfluß eines Glykokollpuffers mit pH 9,6 Kurvenspitzen außer bei 280 mμ, bei 175 und 60 mμ Länge.

Die Geschwindigkeit des Zerfalls nimmt mit fallendem pH ab. Bei pH 10,5 treten nach einer Stunde bereits die ersten Spaltprodukte auf, bei pH 9 erst nach 72 Stunden. Bei noch niedrigeren pH-Werten geht der Zerfall noch entsprechend langsamer vor sich, er ist aber bei geeigneten Versuchsbedingungen deutlich nachweisbar.

Bei niedrigeren pH-Werten wird der Zerfall überdeckt durch die Tendenz der Virusteilchen zur Aggregation, die in saurem Gebiet besonders ausgeprägt ist.

Die Aggregation wird durch gleichzeitig anwesende Zerfallsproteine begünstigt, da diese als Kittsubstanz wirken können.

Frische Viruslösungen zeigen in 0,1 molarer Phosphatpufferlösung bei pH 8 keine Aggregation, solche, die gleichzeitig Zerfallsproteine enthalten, sind unter gleichen Bedingungen bereits zu 15 % polymerisiert. Um der Aggregation bei niedrigem und dem Zerfall bei höherem pH-Wert zu entgehen, erwies es sich als zweckmäßig, das TMV in 0,1 mol. Bikarbonat bei pH 8,6 zu lösen. Diese Lösung gibt bei der elektronenmikroskopischen Aufnahme einheitliche Teilchen von 280 mμ Länge, wenn die Puffersalze vor der Aufnahme ausgewaschen wurden. In der Ultrazentrifuge ergaben sich ebenfalls einheitlich lange Teilchen.

Allgemein zeigen sich unter dem Elektronenmikroskop kleinere Spaltprodukte als bei Ultrazentrifugierung. Die kleinsten dieser Teilchen hatten ein Molekulargewicht von 120 000 und konnten zwar zu Molekülen normaler Größe vereinigt werden; die Aktivität des ursprünglichen Virus aber konnte man nicht wieder herstellen.

Auch Friedrich-Freksa (1947) stellte fest, daß das TMV irreversibel inaktiviert wird, in Bruchstücke zerfällt und diese durch Ansäuern wieder zu großen, aber inaktiven Molekülen vereinigt werden können. Allerdings findet nach seinen Angaben die irreversible Inaktivierung des TMV bereits bei pH 8 bis 10 statt.

Joly (1952) stellte Untersuchungen über die Strömungsdoppelbrechung von TMV-Lösungen an. Er kam zu dem Ergebnis, daß bei Erhöhungen des pH-Wertes bis zum isoelektrischen Punkt des TMV (pH 3,97) die mittlere Teilchengröße zunimmt, bei weiterem Ansteigen der pH-Werte sinkt.

Allgemein sind die Angaben über die Beeinflussung der Aktivität des TMV sehr widerspruchsvoll; auf die Gründe dazu wird später eingegangen werden.

Stanley (1935 III) kommt zu dem Ergebnis, daß die Inaktivierung des TMV in verdünntem unbehandeltem Saft, bei 20 ° C oder — 14 ° C aufbe-

wahrt, so gering ist, daß sie zwischen pH 3 und pH 8 vernachlässigt werden kann.

Die Inaktivierungsrate ist verhältnismäßig hoch zwischen pH 1,5 und 2,5 sowie 9 und 10, sie ist sehr hoch zwischen pH 0,5 und 1,5 sowie 11 und 12. In gereinigten Lösungen sind die Verhältnisse ähnlich, nur ist die Inaktivierungsrate bei pH 3 etwas größer und zwischen 9 und 11 etwas geringer. Eine Reaktivierung von Virus, das bei den pH-Werten 1, 2, 11 oder 12 völlig inaktiviert wurde, konnte nicht konstatiert werden.

Die Empfänglichkeit der Testpflanzen war verschieden. Sie war nicht sehr unterschiedlich bei *Nicotiana-glutinosa*-Pflanzen für TMV, das bei Reaktionen zwischen pH 2 und 10,5 verimpft wurde.

Phaseolus vulgaris (Sorte Early Golden Cluster) war bedeutend empfänglicher für TMV, das bei Reaktionen von pH 9 bis 10,5 verimpft wurde, als für solches bei Reaktionen von pH 0,5 bis 3.

YARWOOD (1952 a) bestätigte allgemein die verschiedene Empfänglichkeit der Testpflanzen für Viren, die bei bestimmten pH-Werten übertragen wurden.

1%ige Zusätze von K_2HPO_4-Lösungen zum Preßsaft erhöhen die Zahl der Läsionen auf bestimmten Sorten von *Phaseolus vulgaris* außer beim TMV auch bei den Viren TNV, Tabak-Ringfleckenmosaik, Luzernemosaik, Gurkenmosaik, Erbsenscheckung, Erbsenmosaik, Kohl-Schwarzringfleckigkeit.

Bei *Nic. glutinosa* wurde die durch Tabakmosaikvirus-Abreibung entstehende höhere Zahl der Läsionen bei dem Zusatz von K_2HPO_4 nur bei Verwendung höherer Blätter festgestellt, bei anderen Testpflanzen gar nicht.

Die Wirkung scheint also nicht direkt auf das Virus ausgeübt zu werden, sondern die Empfänglichkeit der betreffenden Testpflanze wird erhöht, was besonders daraus hervorgeht, daß K_2HPO_4, in stärkerer Konzentration allein verimpft, die Bohnenblätter schädigt.

Doch nun zu weiteren verschiedenen Angaben über die Beeinflussung des TMV durch den pH-Wert! BEST (1936) prüfte den Bereich zwischen pH 5 bis 10. Danach wird die inaktivierte Fraktion über pH 7 bis 8 progressiv größer mit jedem Steigen der pH-Werte bis 10,2, wo nur 0,5 % des der Pufferlösung zugesetzten Virus aktiv bleiben, was mit Hilfe der Läsionsmethode geprüft wurde.

Zwischen pH 8 mit 21 % und 8,9 mit 90 % Inaktivierung wurde das Verhältnis (H^+) : (aktivem Virus) als konstant gefunden, aber nicht unterhalb pH 8. Es dauert aber mehrere Stunden, bis sich ein bestimmter Gleichgewichtszustand (H^+) : (aktivem Virus) einstellt.

Die Inaktivierung des Virus ist eng verbunden mit der Neutralisierung der sauren Gruppen und nicht reversivel durch Herstellung eines pH-Wertes von 7 in den betreffenden Lösungen. Der Verfasser folgert aus seinen Untersuchungen, daß das TMV ein enzymähnlicher Proteinkomplex mit einer oder mehreren prosthetischen Gruppen sei, welche in schwachen Alkalilösungen inaktiviert werden in einem bestimmten Ausmaß, das abhängig ist von der H- oder OH-Ionen-Konzentration.

Best und Samuel (1936 a) bemerken, daß das TMV bei Raumtemperatur unter dem Einfluß von pH 7 keine Veränderung erleidet, über pH 9 aber die Aktivität sinkt. Aus einer kurvenmäßigen Darstellung geht hervor, daß eine teilweise Inaktivierung bei Werten über pH 8,2 und unterhalb pH 2 beginnt und eine völlige Inaktivierung bei pH 11 und pH 0,5 einsetzt.

Bawden und Pirie (1940 b) kommen für verschiedene pH-Werte zu folgendem Ergebnis:

pH 9,3 Infektiosität des TMV bleibt erhalten,

pH 10,3 Infektiosität läßt nach, aber nicht die serologische Aktivität,

pH 11,0 Verlust aller Charakteristika.

Takahashi (1949) stellte vom TMV 1 : 400-Verdünnungen mit Wasser und mit Na_2HPO_4-Pufferlösung her und verglich die beiden Zubereitungsarten, die den pH-Wert 5,6 bzw. 7 hatten, in bezug auf Läsionsbildung und Größenverteilung der Teilchen im Elektronenmikroskop.

Es ergaben sich bei pH 5,6 weniger Läsionen, da weniger lange Teile als bei pH 7 vorhanden waren:

	Läsionen auf Testtabak *Nic. tab.* var. *Trelease*	%-Anteil der Teile zw. 275 u. 325 mμ
pH 5,6	146	25
pH 7,0	198	42

Wenn die ursprünglichen Lösungen durch Zusatz von Na_2HPO_4 bzw. Essigsäure von pH 5,6 auf pH 7 bzw. von pH 7 auf pH 5,6 gebracht wurden, zeigten sie nach der pH-Änderung die Infektiosität und die Größenverteilung, die dem neuen pH-Wert entsprach. Die teilweise Inaktivierung bei pH 5,6 war also durch Veränderung der Lösung auf pH 7 reversibel!

Die Widersprüche zwischen den Angaben der einzelnen Autoren sind wohl durch die verwendete Virusmenge und -präparation, vor allem aber durch die Verschiedenheit der verwendeten Pufferlösungen erklärbar, wofür die Untersuchungen von Thornberry (1935 a) einen Hinweis geben.

Er stellte fest, daß das Reaktionsoptimum für die TMV-Infektion bei pH 7 bis 8,5 liegt. Das Virus wurde innerhalb einer Stunde zwischen pH 1,5 und 9 nicht inaktiviert.

Bei pH 10,6 ergab sich eine völlige Inaktivierung innerhalb vier Stunden, bei pH 11,2 in fünf Minuten, bei 0,5 mol HCl in einer Stunde. Zwischen pH 2 und pH 9 erwiesen sich die Inaktivierungen als weitgehend reversibel.

Das Besondere an seinen Untersuchungen aber ist die Feststellung, daß die verschiedenen Phosphate sich völlig verschieden verhalten, indem besonders zweibasische Phosphatsalze schon in 0,1 mol Konzentration die Infektiosität wesentlich herabdrückten, wobei aber eine Veränderung der Empfänglichkeit der Wirtspflanze nicht für unmöglich gehalten wird. Die Wertigkeit des Anions und des Kations der getesteten Salze scheint jedoch keinen merklichen Einfluß auf die Infektiosität des TMV zu haben.

Allgemein zeigen in 0,1 mol Konzentration die alkalischen Phosphate bzw. Phosphatgemische

Na_2HPO_4	(pH 8,5)
K_2HPO_4	(pH 8,5)
$(NH_4)_2HPO_4$	(pH 7,2)
Sörensengemisch $Na_2HPO_4 + KH_2PO_4$	(pH 8)

eine höhere Läsionsbildung als die sauren Phosphate

NaH_2PO_4	(pH 4,5)
KH_2PO_4	(pH 4,5),

was die graphische Darstellung besonders gut zeigt (Abb. 1).

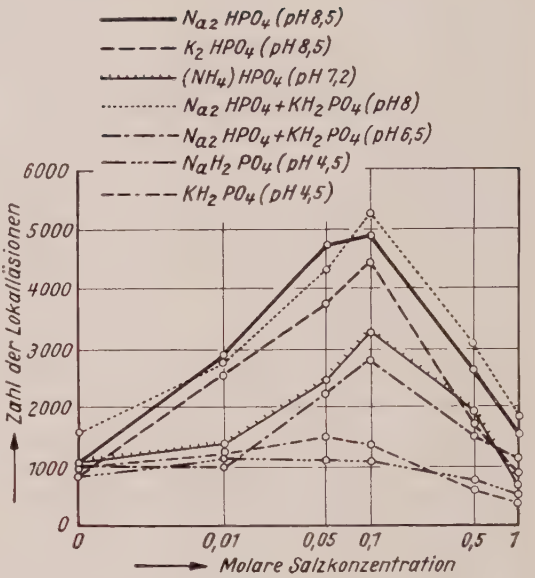


Abb. 1. Die Wirkung von fünf Phosphaten und zwei Phosphatpuffern (pH 8,0 und 6,5) in verschiedenen Konzentrationen auf die Infektiosität des TMV bei einer Verdünnung von 1 : 100. Graphische Darstellung nach THORNBERRY 1935 a

Zur Ergänzung sei noch einiges über die Beeinflussung anderer Viren durch den pH-Wert der Lösung gesagt. Nach BAWDEN und CROOK (1947) hat 0,1 mol Phosphat mit pH 5,5 keine Wirkung auf die Infektiosität oder das serologische Verhalten des X-Virus. Auch bei pH 7 kann die inaktivierende Wirkung des Phosphats verhütet werden durch Anwesenheit von Saft gesunder Blätter und mancher anderen proteinhaltigen Lösungen.

Die Wirkung des Phosphats ist temperaturabhängig. Bei Raumtemperatur und darunter hat es eine geringe inaktivierende Wirkung auf das X-Virus, bei 37 ° C wird mehr als 90 % denaturiert in zwei Stunden, und bei 50 ° C ist die Inaktivierung vollständig in zwei Stunden. Bei 37 ° C geht die Reaktion mit einer ziemlich gleichmäßigen Geschwindigkeit vor sich, sie hört aber nach 16 Stunden beinahe auf, indem sie normalerweise einen kleinen Rest serologisch aktiven Materials mit geringer Infektiosität übrig läßt.

Nach BEST und SAMUEL (1936 a) ist die Infektiosität des Virus der Bronzefleckenkrankheit der Tomate bei 0 ° C praktisch unverändert von pH 6 bis 8,9. Die Inaktivierung erfolgt unter pH 5 und über pH 10.

STANLEY (1935 III) bemerkt, daß das Tabak-Ringfleckenmosaik-Virus und das Gurken-Mosaik-Virus sich als bedeutend weniger stabil erwiesen als das TMV, dessen Inaktivierung, wie schon erwähnt, zwischen pH 3 und 8 praktisch vernachlässigt werden könne.

Zusammenfassend ist zu bemerken, daß die Frage der Aktivitätsbeeinflussung eines Virus durch die verschiedenen pH-Werte noch nicht endgültig gelöst ist.

Das liegt vor allem daran, daß man im Preßsaft oder einer Viruspräparierung die pH-Wirkung nur sehr schlecht für sich isoliert betrachten kann, denn von stärkstem Einfluß sind unter anderem:

1. Pufferkonzentration.
2. Zeitdauer der Einwirkung des zu prüfenden pH-Wertes.
3. Temperatur während der Einwirkung.
4. Alter des Saftes oder der Präparierung.
5. Verdünnung des Saftes oder der Präparierung.
6. Infektiosität des Ausgangsmaterials je nach Virusstamm.
7. Verwendete Testpflanze.
8. Verwendete physikalische Methode bei der Bestimmung der Teilchengröße des Virus.

Aus der Vielfalt dieser Komponenten, die einer exakten Bestimmung des pH-Einflusses entgegenwirken, ergibt sich auch die Vielzahl der Methoden, mit denen jeder Autor zum Ziel zu kommen glaubt.

In bezug auf das TMV darf man wohl sagen, daß die meisten Autoren darüber einig sind, daß zwischen pH 3 und pH 8 die Inaktivierung des TMV, soweit sie nur auf das Konto der pH-Einwirkung geht, sehr gering ist.

5. Chemikalien als aktivitätsbeeinflussende Faktoren

Die Reihe der Chemikalien, die von den verschiedensten Autoren hinsichtlich ihrer inaktivierenden Wirksamkeit gegenüber Viren, insbesondere dem TMV, untersucht wurden, ist zu groß, um alle Ergebnisse einzeln besprechen zu können.

Sie wurden deshalb in einer tabellarischen Übersicht zusammengestellt unter Berücksichtigung der Daten, die für die reversible oder irreversible Inaktivierung bzw. den Destruktionsvorgang besonders wichtig sind.

Einige Versuche, die von allgemeiner Bedeutung für die chemische Inaktivierung sind, seien aber noch kurz erwähnt.

Schramm und Müller (1940) stellten fest, daß die Aminogruppen des TMV-Moleküls völlig abgebunden sein können mit Acetyl- oder Phenylureidgruppen, ohne daß die Infektiosität abnimmt. Verlängerte Acetylierung jedoch wirkt inaktivierend, was mit der Einwirkung auf die Phenolgruppen erklärt wird.

Müller und Stanley (1941) konnten keine vollständige Abbindung der betreffenden Gruppen ohne Nachlassen der Infektiosität erreichen, aber sie stellten fest, daß 70 % der Aminogruppen und 30 % der Phenol- und Indolgruppen abgebunden werden konnten ohne irgendeine Inaktivierung.

Amson und Stanley (1941) oxydierten die Sulfhydrilgruppen des TMV mit Jod ohne Reduzierung der Infektiosität. Wenn die Behandlung ausreichte, um das Tyrosin in Di-Jodo-Tyrosin zu verwandeln, wurde das Virus inaktiviert und denaturiert.

Es scheint aus den drei Beispielen hervorzugehen, daß bei Überschuß und längerer Einwirkung der genannten Verbindungen letzten Endes doch eine mehr oder weniger starke Inaktivierung des TMV erfolgt.

Die Frage, ob Chemikalien, die eine inaktivierende Wirksamkeit zeigen, durch irgendwelche gemeinsamen Eigenschaften charakterisiert werden, beantwortete STANLEY (1935 IV). Er stellte fest, daß sich bei Zusatz einiger Chemikalien zum TMV statt der erwartenden Inaktivierung eine Förderung der Infektiosität ergab.

Die Chemikalien, die einen direkten inaktivierenden Einfluß auf das TMV haben, ohne die Empfindlichkeit der Wirtspflanze irgendwie zu verändern, faßte er in drei Gruppen zusammen:

1. Oxydierende Stoffe.
2. Protein präzipitierende Agentien.
3. Agentien, die eine schädliche Wasserstoffionenkonzentration hervorrufen.

JOHNSON (1941) ist der Ansicht, daß der pH-Wert der Chemikalien nichts mit deren inaktivierender Wirksamkeit zu tun hat, da insbesondere die stark inaktivierenden Substanzen sich über die ganze pH-Skala verteilen (s. tabellarische Übersicht).

Wie aus der Übersicht ebenfalls hervorgeht, ist die durch Chemikalien hervorgerufene Inaktivierung der Viren in vielen Fällen mehr oder weniger reversibel.

Die serologische Aktivität der Präparierungen wurde allerdings nur in wenigen Fällen untersucht.

Bestimmte Chemikalien sind in der Lage, in der Pflanze die durch die Virusinfektion bedingten Symptome mehr oder weniger zu unterdrücken. Es kann dabei natürlich keine völlige Inaktivierung des Virus und damit eine Gesundung der Pflanze erzielt werden, da sehr hohe Dosen der Mittel, die evtl. völlig inaktivierend auf das Virus wirken würden, eine starke phytotoxische Wirkung zeigen.

SARDINA und CORDON (1950) mischten Kalium-, Natrium- und Ammoniumbromid im Verhältnis 2 : 1 : 1 und setzten diese Mischung einer Nährlösung zu. Die in der Nährlösung angezogenen Pflanzen zeigten eine Verzögerung der TMV- und Kartoffel-X-Virussymptome. Gleichzeitig traten jedoch Chlorosen auf.

Von untersuchten Sulfonamiden zeigte das Prontosil Bayer die beste Wirkung, die 0,012%ige Konzentration wirkte auf die TMV-Symptome vollständig unterdrückend, jedoch gleichzeitig phytotoxisch. 0,006 % zeigten keine phytotoxische Wirkung, aber auch keine Unterdrückung der Symptome.

YAMAFUJI und GOYA (1950) düngten Tabakpflanzen täglich mit Ferri- und auch Ferrosulfat in verschiedenen Konzentrationen und infizierten sie nach zehn Tagen mit Virus. Sie stellten fest, daß die Virusvermehrung in den gedüngten Pflanzen etwas gehemmt wurde, so ergaben sich auf *Nicotiana glutinosa*

bei Verimpfung von Virus allein 55 Läsionen,
bei Verimpfung von Virus + n/250 $Fe_2(SO_4)_3$ 38 Läsionen,
bei Verimpfung von Virus + n/500 $Fe_2(SO_4)_3$ 42 Läsionen.

Auf *Nicotiana tabacum* wirkten n/100 und n/1000 Ferro- und Ferrisulfat ebenfalls virushemmend.

Nach Matthews (1951) verhinderte wöchentlich dreimalige Spritzung von „Guanazol" (5-Amino-7-oxy-1-V-triazol [D]-pyrimidin) in 0,1%iger Konzentration vor oder nach der Infektion des *Nicotiana glutinosa* mit Luzernemosaik-Virus die Bildung von Primärläsionen und die systemische Infektion. Das X-Virus der Kartoffel und die Bronzefleckenkrankheit der Tomate wurden bei Verimpfung auf Tabak durch die genannte Verbindung nicht beeinflußt.

In weiteren Versuchen mit Purinsubstitutionsprodukten verursachte (Matthews 1953, zit. nach Bortels und Köhler 1954) 8-Azoguanin beim Versprühen auf die Pflanze eine Hemmung der Vermehrung des TMV, vermutlich durch Verdrängung des Guanins der Virusnukleinsäure.

Gegenüber dem Luzerne- und Gurkenmosaik wirkte die Verbindung weniger nachhaltig und gegenüber einigen anderen Viren gar nicht.

In Tabakblattscheibenkulturen hemmt 2,6-Diaminopurin die Vermehrung des TMV etwa 80%ig (Ryshkow und Marchenko 1952 sowie Mercer, Lindhorst und Commoner 1953, zit. nach Schneider 1954).

Schneider (1954) erhielt, nach der gleichen Methodik arbeitend, starke Hemmungen der TMV-Vermehrung nicht nur durch 8-Azoguanin in einer Lösung von 70 mg/100 ccm, sondern auch durch 8-Azoadenin, 2-Azoadenin und 2,6-Diaminopurinsulfat in Lösungen von 10 bis 15 mg/100 ccm. Dabei nahm die Virusvermehrung ab mit steigender Konzentration der genannten Verbindungen.

Bemerkungen zur Tabelle 1:

Aus den Angaben der Autoren geht in den meisten Fällen nicht hervor, ob mit Viruspräparationen oder Preßsaft gearbeitet wurde, es sind deshalb auch keine Angaben darüber in der Tabelle enthalten.

Die Reversibilitätsproben wurden von Johnson (1941) mit Hilfe der Agarscheibenmethode durchgeführt. Dabei wurden Agarscheiben mit einem genau definierten TMV-Gehalt in Lösungen von Chemikalien gelegt, anschließend gewässert und schließlich auf *Nicotiana glutinosa* nach der Halbblattmethode ausgetestet, wobei bei der Kontrolle an die Stelle der Chemikalien Aqua dest. trat.

Das Inaktivierungsergebnis wurde dann verglichen mit der Inaktivierung, die durch Chemikalienbehandlung ohne anschließende Wässerung erzielt wurde und aus diesem Vergleich auf die Reversibilität der Inaktivierung geschlossen.

Angaben über die Reversibilität einer Inaktivierung, die nicht von Johnson stammen, werden im Text besonders erwähnt.

Tabelle 1 Chemikalien als aktivitätsbeeinflussende Faktoren

Chemikalien	Virus	Konzentration der Chemikalien	pH	Zeitdauer d. Einwirkung des Inaktivators	Verlust der Infektiosität bzw. % Inaktivierung	Verlust der serol. Aktivität	Reaktivierg. möglich, wieviel % irreversibel inaktiviert	Besondere Feststellungen	Autor *)
a) irreversibel inaktivierend									
Salpetersäure	TMV	1 %	1,2	24 Std.	100 %		nein, irreversibel, 100 %	Auch in schwächerer Konzentration (0,5 %) und geringer Zeit (bis 2 Std.) inaktivierend	JOHNSON 1941
Salpetersäure	TMV	sehr gering			nein, sogar Stimulierung			Test auf *Phaseolus vulgaris*	YARWOOD 1954
Salzsäure	TMV	1 %	1,5	24 Std.	100 %		nein, irreversibel, 100 %	Auch in schwächerer Konzentration (0,5 %) inaktivierend, Inaktivator braucht relativ lange Zeit zum Kontakt mit dem Virus, um Inaktivierung hervorzurufen	JOHNSON 1941
Bromwasser	TMV	0,1 %	1,7	2 Std.	100 %		nein, irreversibel, 100 %		JOHNSON 1941
Pikrinsäure	TMV	0,5 %	1,9	2 Std.	100 %		nein, irreversibel	Bei 0,2 % nicht so stark inaktivierend	JOHNSON 1941
Quecksilberacetat	TMV	0,2 %	4,0	2 Std.	100 %		nein, irreversibel, 100 %		JOHNSON 1941
Phenol	TMV	5 %	5,3	6 Std.	100 %		nein, irreversibel		JOHNSON 1941
Phenol	TMV, Bushy stunt, teilweise Kartoffel-X	4 mol oder weniger			ja			Bei Gegenwart von Alkali in neutraler Lösung, Denaturierung bei TMV und Bushy stunt-Virus unter Abtrennung der Nukleinsäure	BAWDEN u. PIRIE 1940

*) Autoren, deren Namen eingeklammert sind, wurden zitiert nach BAWDEN 1950.

Lithiumcarbonat	TMV	1 %	10,8	2 Std.	100 %	nein, irreversibel, 100 %	Auch in schwächerer Konzentration (0,5 %) inaktivierend, aber nicht so stark, Inaktivator braucht längere Kontaktzeit mit dem Virus, um Inaktivierung hervorzurufen	Johnson 1941
Kalilauge	TMV	0,1 %	12	6 Std.	100 %	nein, irreversibel, 100 %	Stärkere Konzentration (1 %) ebenfalls geprüft, Inaktivator braucht längere Kontaktzeit mit dem Virus, um Inaktivierung hervorzurufen	Johnson 1941
Trinatriumphosphat	TMV	0,25 %	12,2	2 Std.	100 %	nein, irreversibel, 100 %	Schwächere Konzentrationen (0,05 % und 0,075 %) wirken etwas weniger stark inaktivierend	Johnson 1941
b) völlig oder fast völlig inaktivierend, höchstens ein Viertel der alten Aktivität wieder herstellbar								
Zitronensäure	TMV	10 %	1,8	24 Std.	100 %	teilweise, 82 %	Bei 6 Std. Einwirkung etwas geringere Inaktivierung	Johnson 1941
Eisen- (Ferri-) chlorid	TMV	1 %	3	2 Std.	100 %	wenig, 98 %		Johnson 1941
Eisen- (Ferri-) chlorid	TMV	sehr gering			nein, sogar Stimulierung		Test auf *Phaseolus vulgaris*	Yarwood 1954
Tanninsäure	TMV	5 %	3,2	2 Std.	100 %	teilweise, 75 %		Johnson 1941
Tannine	TMV	über 10 %			ja	möglich durch Nikotinsulfat oder Magermilchpulver, Abfiltrieren nach 15 Tagen, Ultrafiltration oder Präzipitation	Tannine auf Erdbeerblättern, Hemmung abhängig von der Tanninsäure-Konzentration, oberhalb 10 %, auch Hemmung, wenn vor der Verimpfung des Virus auf die Pflanze gebracht	Thung u. van der Want 1951 Thornberry 1935 b

Tabelle 1 (Fortsetzung) Chemikalien als aktivitätsbeeinflussende Faktoren

Chemikalien	Virus	Konzentration der Chemikalien	pH	Zeitdauer d. Einwirkung des Inaktivators	Verlust der Infektiosität bzw. % Inaktivierung	Verlust der serol. Aktivität	Reaktivierg. möglich, wieviel % irreversibel inaktiviert	Besondere Feststellungen	Autor
Aluminiumchlorid	TMV	1 %	3,5	24 Std.	100 %		teilweise, 93 %		JOHNSON 1941
Formalin handelsüblich	TMV	10 %	5,2	6 Std.	97 %		teilweise, 83 %		JOHNSON 1941
Formalin	TMV	bei Überschuß			ja, aber keine Denaturierung		teilweise durch Dialyse bei pH 3, Reduktion der Amino-Gruppen wieder aufgehoben	Reduktion der Amino-Gruppen und der mit Folins Reagenz reagierenden Gruppen. Amino-N-Gehalt niedriger als unbehandelt, isoelektrischer Punkt verschoben zur sauren Seite, keine Partikelspaltung	BAWDEN 1950 (STANLEY 1936), (WYCKOFF, BISCOE u. STANLEY 1937),
Formalin		kleinere Menge			ja, proportional zur gegebenen Menge				(ROSS u. STANLEY 1938),
Formalin		2 %			ja, völlig zwischen pH 3 und 7,5		nein, auch nicht durch Dialyse		
Wasserstoff-Peroxyd	TMV	bei Überschuß			ja, Denaturierung	ja		Amino-N-Gehalt niedriger als bei unbehandelt, keine Partikelspaltung	(KASSANIS u. KLECZKOWSKI 1944)
Wasserstoff-Peroxyd	TMV	5 %		5 Std.	nein, nicht denaturiert	nein			BAWDEN 1950
Wasserstoff-Peroxyd	Kartoffel-X	1 %			ja, denaturiert	ja			
Wasserstoff-Peroxyd	Kartoffel-X	0,2—1 %			ja	nein			

Wasserstoff-Peroxyd	TMV	3 %	2,7	24 Std.	96 %		teilweise, 94 %		Johnson 1941
Bleiacetat	TMV	5 %	6,7	24 Std.	100 %		teilweise, 85 %		Johnson 1941
Oxalsäure	TMV	1 %	1,8	6 Std.	93 %		teilweise, 86 %	In 2%iger Konzentration ebenfalls geprüft	Johnson 1941
Kalium-permanganat	TMV	0,05 %	7,5	4 Std.	98 %		teilweise, 96 %		Johnson 1941
Kalium-permanganat	TMV				ja, sehr schnell				Best u. Samuel 1936 b
Kalium-permanganat	TMV	sehr gering			nein, sogar Stimulierung			Test auf *Phaseolus vulgaris*	Yarwood 1954
Silbernitrat	TMV	3 %	5,5	6 Std.	99 %		teilweise, 83 %		Johnson 1941
Silbernitrat	TMV	0,25—1 %		1 Min., 1 Std. u. 24 Std.	ja, stark		ja, aber nur bei Saft, nicht bei dialysierter Präparierung	Wirkung um so stärker, je geringer die zugesetzte Virusmenge ist	Went 1937
Silbernitrat	TMV				nein!				Klebahn 1936
Silbernitrat	TMV	0,01 %		10 Min.	nein, sogar Stimulierung			Bei Test auf *Phaseolus vulgaris* Stimulierung auf 11 200 %	Yarwood 1954
Zinnchlorid	TMV	0,5 %		4 Std.	90 %		teilweise, 91 %		Johnson 1941

c) völlig oder fast völlig inaktivierend, aber mehr als 25 % der alten Aktivität wieder herstellbar

Kupfersulfat	TMV	3 %	4,5	24 Std.	100 %		teilweise 66 %		Johnson 1941
Kupfersulfat	TMV	3 %	4,5	6 Std.	99 %		teilweise, 24 %		Johnson 1941
Kupfersulfat	TMV	0,25—1 %		1 Min., 1 Std. u. 24 Std.	ja, stark		ja, durch Verdünnung d. Gemisches	Wirkung um so stärker, je geringer die zugesetzte Virusmenge ist	Went 1937

Tabelle 1 (Fortsetzung) Chemikalien als aktivitätsbeeinflussende Faktoren

Chemikalien	Virus	Konzentration der Chemikalien	pH	Zeitdauer d. Einwirkung des Inaktivators	Verlust der Infektiosität bzw. % Inaktivierung	Verlust der serol. Aktivität	Reaktivierg. möglich, wieviel % irreversibel inaktiviert	Besondere Feststellungen	Autor
Kupfersulfat	TMV	sehr gering			nein, sogar Stimulierung			Test auf *Phaseolus vulgaris*	YARWOOD 1954
Milchsäure	TMV	5 %	2,1	24 Std.	99 %		teilweise, 67 %		JOHNSON 1941
Essigsäure	TMV	6 %	2,6	6 Std.	100 %		fast völlig, 11 %	Auch in schwächerer Konzentration (3 %) inaktivierend	JOHNSON 1941
Quecksilberchlorid	TMV	2 %	6,8	6 Std.	100 %		teilweise, 51 %		JOHNSON 1941
Quecksilberchlorid	TMV	über 0,01 %		wenige Std.	ja, über pH 6, aber keine Denaturierg.				
Quecksilberchlorid	TMV	über 0,01 %		mehrere Std.	ja, bei Alkaligegenwart, Denaturierg.	ja	nein	Empfindlichkeit des TMV größer bei pH 6, 7, 8 als bei 3, 4, 5	(KASSANIS u. KLECZKOWSKI 1944), STANLEY 1935 IV
Quecksilberchlorid	TMV			mehrere Std.	nein, sogar Stimulierung				
Quecksilberchlorid	TMV	sehr gering			nein, sogar Stimulierung			Test auf *Phaseolus vulgaris*	YARWOOD 1954
Quecksilberchlorid	TMV				ja		ja, teilweise		WENT 1937
Quecksilberchlorid	TNV				ja		ja, teilweise	Reaktivierung durch Verdünnung oder Präzipitierung der Quecksilberionen mit Hilfe passender Salze	(MANIL 1938)

Kalium-bichromat	TMV	2 %	4,3	24 Std.	99 %		teilweise, 62 %	Inaktivator braucht längere Kontaktzeit, um Inaktivierung hervorzurufen	JOHNSON 1941
Kalium-bichromat	TMV	0,005 %		4 Std.	ja, aber nur wenig			Von 15 geprüften Chemikalien mit zwei anderen zu den wirksamsten gehörend	BEST u. SAMUEL 1936 b
Harnstoff	TMV	40 %		48 Std.	89 %		fast völlig, 9 %		JOHNSON 1941
Harnstoff	TMV	gesättigt			ja, Denaturierung oder Wechsel in d. Hydratation			Abtrennung der Nukleinsäure vom Protein, Verlust der flüssig-kristallinen Struktur der Lösungen. Molekülgewicht fällt bis auf 40 000, Vorgang abhängig von der Harnstoff-Konzentration, Typ u. Konzentration des zugesetzten Elektrolyts, dem pH-Wert und der Temperatur. Allgemein durch Alkali gefördert, bei 20° C minimal, bei —10° C Zunahme	(BAWDEN u. PIRIE 1937), (STANLEY u. LAUFFER 1939), BAWDEN u. PIRIE 1940 a (FRAMPTON 1939)
Harnstoff	Kartoffel-X, Bushy stunt, TNV	bei X geringe, bei Bushy stunt sehr hohe Konzentration			ja, Denaturierg.	ja	nein		
Harnstoff	TMV	20 %			nein, keine wesentliche				JOHNSON 1941
Ammonium-sulfat	TMV	25 %	4.6	6 Std.	85 %		völlig, sogar Stimulierung d. Aktivität um 23 %		JOHNSON 1941
Ammonium-sulfat	Tabak-Ringflecken-mosaik				ja			Abtrennung der Nukleinsäure	(STANLEY 1939)
Ammonium-sulfat	TMV				ja, sehr stark		ja, durch pH 8,5		THORNBERRY 1935 a

Tabelle 1 (Fortsetzung) Chemikalien als aktivitätsbeeinflussende Faktoren

Chemikalien	Virus	Konzentration der Chemikalien	pH	Zeitdauer d. Einwirkung des Inaktivators	Verlust der Infektiosität bzw. % Inaktivierung	Verlust der serol. Aktivität	Reaktivierg. möglich, wieviel % irreversibel inaktiviert	Besondere Feststellungen	Autor
Thiamin	TMV				ja		ja, durch Dialyse-Bindung wieder aufgehoben	Die hemmende Wirkung der Kationen ließ sich durch Mg^{++} und Ca^{++} und Nukleinsäure aufheben, es entstehen dann unlösliche Verbindungen	Ryshkow 1950
Vertreter der Acridinreihe	TMV				ja		ja, durch Dialyse-Bindung wieder aufgehoben		
d) unter 80 % inaktivierend, wenig reversibel									
Alkohol	TMV	95 %		6 Std.	77 %		teilweise, 56 %		Johnson 1951
e) schwach und fast gar nicht inaktivierend, nach Reversibilitätsproben stärker inaktivierend									
Zinksulfat	TMV	2 %	5,8	6 Std.	23 %		Zunahme der Inaktivierung auf 64 %		Johnson 1941
Zinksulfat	TMV				ja, fast 100 %			Zinkion für Inaktivierung verantwortlich	Weintraub, Gilpatrick u. Willison 1952
Zinksulfat	TMV	0,3 %			98 %			Bei Test auf *Phaseolus vulgaris*, bei niedrigen Konzentrationen sehr starke Stimulierung des TMV	Yarwood 1954
Mannit	TMV	5 %		4 Std.	20 %		Zunahme der Inaktivierung auf 43 %		Johnson 1941

Dextrose	TMV	[illegible]		[illegible]	31 %		geringe Zunahme auf 38 %	Johnson 1941
Safranin	TMV	0,05 %	6,6	6 Std.	27 %		starke Zunahme auf 96 %	Johnson 1941
Aluminium-hydroxyd	TMV	gesättigte Lösung	9,7	6 Std.	13 %		wenig Zunahme der Inaktivierung auf 19 %	Johnson 1941
f) mehr oder weniger inaktivierend (% nicht genau angegeben), Reversibilität nicht geprüft								
Salpetrige Säure	TMV	bei Überschuß			ja, Denaturierg.	ja	Fast kein Amino-N, opaleszenter, isoelektrischer Punkt verschoben zur sauren Seite, keine Partikelspaltung	Bawden 1950 (Stanley 1936), (Wyckoff Biscoe u. Stanley 1937), (Ross u. Stanley 1938)
Holzkohle	TMV				ja		Maximal bei pH 3—5 mit sehr feiner Holzkohle durch Adsorption	Stanley 1935 IV
Zinkchlorid	TMV u. Nelken-mosaik				ja, fast 100 %		Für Inaktivierung wohl Zinkion verantwortlich, s. Zinksulfat	Weintraub, Gilpatrick u. Willison 1952
Zinkchlorid	TMV	sehr gering			nein, sogar Stimulierung		Test auf *Phaseolus vulgaris*	Yarwood 1954
Senföl	TMV	2 %		5 Tage	ja		Verhältnismäßig lange Einwirkungszeit notwendig	Fukushi 1930 nach Köhler 1934
Digitalin	TMV	5 %		5 Tage	ja		Verhältnismäßig lange Einwirkungszeit notwendig	Fukushi 1930 nach Köhler 1934

Tabelle 1 (Fortsetzung) Chemikalien als aktivitätsbeeinflussende Faktoren

Chemikalien	Virus	Konzentration der Chemikalien	pH	Zeitdauer d. Einwirkung des Inaktivators	Verlust der Infektiosität bzw. % Inaktivierung	Verlust der serol. Aktivität	Reaktivierg. möglich, wieviel % irreversibel inaktiviert	Besondere Feststellungen	Autor
Wasser	TMV				leichte Inaktivierung			Setzt Läsionszahl herab im Gegensatz zur Verimpfung von eingetrocknetem Präparat, eventuell eine Konzentrationsfrage	YARWOOD 1952 b
Chlorazen	TMV				ja sehr schnell				BEST u. SAMUEL 1936 b
Natrium-dodecylsulfat	TMV, Bushy stunt, teilweise Kartoffel-X	4 mol oder weniger			ja			Bei Gegenwart von Alkali in neutraler Lösung. Denaturierung bei TMV und Bushy stunt unter Abtrennung der Nukleinsäure, bei Kartoffel-X ebenfalls	BAWDEN u. PIRIE 1940 b
Urethan	TMV, Bushy stunt, teilweise Kartoffel-X	4 mol oder weniger			ja			Bei Gegenwart von Alkali in neutraler Lösung. Denaturierung bei TMV und Bushy stunt unter Abtrennung der Nukleinsäure, bei Kartoffel-X keine solche Trennung	BAWDEN u. PIRIE 1940 b
Guanidin	TMV, Bushy stunt, teilweise Kartoffel-X	4 mol oder weniger			ja				
Pyridin	TMV, Bushy stunt, teilweise Kartoffel-X	4 mol oder weniger			ja				

Picolin	TMV, Bushy stunt, teilweise Kartoffel-X	4 mol oder weniger		ja		
Lutidin	TMV, Bushy stunt, teilweise Kartoffel-X	4 mol oder weniger		ja		
Anitin	TMV, Bushy stunt, teilweise Kartoffel-X	4 mol oder weniger		ja	Bei Gegenwart von Alkali in neutraler Lösung. Denaturierung bei TMV und Bushy stunt unter Abtrennung der Nukleinsäure, bei Kartoffel-X keine solche Trennung	
Natrium-salizylat	TMV Bushy stunt, teilweise Kartoffel-X	4 mol oder weniger		ja		Bawden u. Pirie 1940 b
Natrium-benzoat	TMV, Bushy stunt, teilweise Kartoffel-X	4 mol oder weniger		ja		
Natrium-hippurat	TMV, Bushy stunt, teilweise Kartoffel-X	4 mol oder weniger		ja		
Salze	TMV	1 mol		ja, aber verschieden stark durch Präzipitation des Proteins		Best 1940
Anionenreihe nach der Wirksamkeit						
Nitrate	TMV	1 mol		ja, aber verschieden stark durch Präzipitation des Proteins		Best 1940
Thiozyanate	TMV	1 mol				
Jodide	TMV	1 mol				
Bromide	TMV	1 mol				
Chloride-Succinate-Acetate	TMV	1 mol				

Tabelle 1 (Fortsetzung) Chemikalien als aktivitätsbeeinflussende Faktoren

Chemikalien	Virus	Konzentration der Chemikalien	pH	Zeitdauer d. Einwirkung des Inaktivators	Verlust der Infektiosität bzw. % Inaktivierung	Verlust der serol. Aktivität	Reaktivierg. möglich, wieviel % irreversibel inaktiviert	Besondere Feststellungen	Autor
Phthalate	TMV	1 mol			ja, aber verschieden stark durch Präzipitation des Proteins				Best 1940
Phosphate	TMV	1 mol							
Tartrate	TMV	1 mol							
Malate	TMV	1 mol							
Sulfate	TMV	1 mol							
Zitrate	TMV	1 mol							
Salicylate	TMV	1 mol			ja, aber unregelmäßig				Best 1940
g) es wirken u. a. nicht inaktivierend									
Nikotin	TMV				nein			Ergibt faserige reversible Präzipitate	Bawden u. Pirie 1940 b
Arginin	TMV				nein				Klebahn 1936
Blausäure	TMV				nein				
Cyankalium	TMV				nein				
Äther	TMV				nein				
Chloroform	TMV				nein				
h) neben den genannten Verbindungen wirken in sehr geringer Konzentration weiterhin stimulierend									
Calciumchlorid	TMV	1 %		10 Min.	nein, sogar Stimulierung auf 2300 %			Test auf *Phaseolus vulgaris*	Yarwood 1954
Calciumnitrat	TMV	sehr gering			nein, sogar Stimulierung			Test auf *Phaseolus vulgaris*	Yarwood 1954
Kupfer(i)chlorid	TMV								
Schwefelsäure	TMV								
Kaliumcarbonat	TMV								
Lithiumsulfat	TMV								
Mangansulfat	TMV								
Nickelsulfat	TMV								
Natriumthiosulfat	TMV								
Bleinitrat	TMV								
Zinkacetat	TMV								

Nichols (1952) stellte fest, daß Spritzungen mit den Pflanzenhormonen Naphthalinessigsäure und Indolbuttersäure die Heftigkeit der TMV-Symptome vermindern.

Die Indolbuttersäure wirkte insofern besser, als sie in bestimmten wirksamen Konzentrationen keine Entwicklungsstörungen bei der Pflanze verursachte. Gute Resultate wurden erzielt mit 100 mg/Liter täglich oder 500 mg alle fünf bis neun Tage. Bei beiden Hormonen wurde aber keine Konzentration gefunden, die alle TMV-Symptome verhindert, ohne die Tabakpflanze zu schädigen.

Auch Dichlorphenoxyessigsäure hemmt die Virusvermehrung (Limasset, Levieil und Séchet 1948, zit. nach Köhler 1954). Allgemein scheinen Wuchsstoffe nach Ansicht von Limasset und Cornuet (1950, zit. nach Köhler 1954) das Meristem der Sproßspitze der Tabakpflanze gegen TMV dadurch zu schützen, daß sie an ihrem Bildungsort unterhalb des Meristems eine Schranke gegen eindringendes Virus bilden.

Cain und Parker (1951) stellten in dreijährigen Düngungsversuchen fest, daß durch Ammoniumsulfat-Düngung die Symptome der virösen Vergilbung der Sauerkirsche sich nicht völlig unterdrücken lassen. Die Erträge der Bäume wurden jedoch erhöht.

Ebenso ist es ja eine bekannte Tatsache, daß das Kartoffel-X-Virus durch hohe Stickstoffgaben maskiert werden kann.

Zum Schluß sei noch erwähnt, daß eine direkte Zerstörung des Virus durch Chemikalien sich als praktisch erwies bei einer Paprikavirose. Diese ist durch ein Virusgemisch bedingt, dessen Hauptanteil das Gurkenmosaik ausmacht, und wird vielfach durch das am Samen äußerlich haftende Virus übertragen. Die Paprikasamen können durch zehn Minuten lange Behandlung mit 1%iger Natronlauge entseucht werden (Szmirmai 1950).

Nach einer Mitteilung auf der Tagung über pflanzliche Virosen, Moskau 1940, ist gegen Tabakvirosen eine vier Tage dauernde Saatgutbeize mit Formalin (Verdünnung 1:25) wirksam.

6. Fermente, Seren, Blut und Eiweiße bzw. eiweißhaltige Substanzen als aktivitätsbeeinflussende Faktoren

a) Fermente

Das Trypsin ist das meist untersuchte unter den Virus-inaktivierenden Fermenten. Es bewirkt eine völlige Inaktivierung einer TMV-Verdünnung von 1 : 100 bei einer Konzentration von 3,5 %. Bei geringerer Trypsin-Konzentration ergibt sich eine schwächere Inaktivierung (Fulton 1943). 2 % 48 Stunden wirken stark inaktivierend auf TMV-haltige Agarscheiben (Johnson 1941) und setzen die Läsionszahlen etwa um 90 % herab, während 0,25 % die Läsionszahlen um 22 bis 90 % herabsetzen, wobei mit kleiner werdender zugesetzter Virusmenge die Inaktivierung zunimmt (Caldwell 1936).

Die Hemmung setzt sofort nach der Mischung ein (Stanley 1934), jedoch nicht ganz so schnell wie beim Kartoffel-X-Virus (Kleczkowski 1944).

Ob bei der Inaktivierung das Trypsin eine direkte Kombination mit dem TMV eingeht, ist umstritten, STANLEY (1934) ist der Ansicht, daß keine vorliegt, BAWDEN und PIRIE (1936) halten es für wahrscheinlich, HILLS und WINSON (1938) sprechen sich eindeutig für eine Kombination aus, da die Diffusionsgeschwindigkeit der Mischungen von TMV und Trypsin erheblich von der der beiden unvermischten Komponenten abweicht.

Die Inaktivierung ist reversibel und kann aufgehoben werden durch Erhitzen auf 70 ° C für 15 Minuten (CALDWELL 1936), Verdauung (Andauung) des Trypsins mit Pepsin oder Verdünnung (STANLEY 1934) und schließlich durch Ultrazentrifugierung (KLECZKOWSKI 1944).

Wie bei einer gut reversiblen Inaktivierung zu erwarten ist, wurde ein Nachlassen der serologischen Aktivität des trypsinbehandelten TMV von keiner Seite festgestellt. Bemerkenswert ist, daß es grundsätzlich auch bei pH-Werten, bei denen Trypsin nicht proteolytisch aktiv ist, zu einer Inaktivierung kommt. Werden nach erfolgter Mischung noch die zur Proteolyse notwendigen Bedingungen hergestellt, so erfolgt eine zusätzliche Inaktivierung (STANLEY 1934).

Ob im Falle der Trypsineinwirkung eine direkte inaktivierende Beeinflussung des Virus vorliegt oder eine Resistenzsteigerung auf seiten der Wirtspflanze, ist nicht entschieden. STANLEY (1934) räumte der letzten Möglichkeit eine gewisse Bedeutung ein auf Grund von Untersuchungen, bei denen verschiedene Mengen von Trypsin und Virus zusammengegeben wurden. CALDWELL (1936) dagegen schließt aus der Tatsache, daß die Hemmwirkung des Trypsin um so größer ist, je kleiner die zugesetzte Virusmenge ist, daß eine überwiegende direkte Inaktivierung des Virus vorliegt.

Sonderbarerweise verbindet sich bei der Inaktivierung das TMV mit mehr Trypsin als das Kartoffel-X-Virus, obwohl das X-Virus stärker inaktiviert wird als das TMV. Bei Mischung von X-Virus und Trypsin kommt es nämlich unter Bedingungen, die für die Trypsininaktivität ungünstig sind, sehr schnell zur Kombination unter Bildung nichtinfektiöser Komplexe. Bei Bedingungen, die für die Trypsinaktivität günstig sind, wird das Virus durch Hydrolyse noch weiter zerstört und die Infektiosität sinkt noch weiter ab, sogar die serologische Aktivität läßt etwas nach (BAWDEN und PIRIE 1936).

Auch beim X-Virus liegt eine reversible Inaktivierung vor. Die Infektiosität kann wieder hergestellt werden durch Verdünnung, wobei es zur Trennung der Kombination kommt (BAWDEN und PIRIE 1936) oder, genau wie beim TMV, durch Ultrazentrifugierung (KLECZKOWSKI 1947).

FULTON stellte 1943 die Trypsinkonzentrationen fest, die zu einer völligen Inaktivierung einiger weiterer Viren (in bestimmten Verdünnungen der Extrakte) notwendig sind:

Virus	Trypsinkonzentration
Bohnenmosaik (Verdünnung 1 : 10)	0,25—1,25 %
Tabak-Ringfleckenmosaik (1 : 100)	0,5 —1 %
Gurkenmosaik (1 : 100)	2,5 —3 %
Kartoffel-X (1 : 100)	3 —3,5 %

Das Pepsin wird von einigen Autoren (Lojkin und Vinson 1931, zitiert nach Caldwell 1936, und Caldwell 1936) als nicht inaktivierend gegenüber dem TMV geschildert.

Kleczkowski (1947) stellte dazu fest, daß das Pepsin sich nur mit denaturiertem TMV kombiniert, jedoch nicht mit aktivem. Allerdings dürfte das eine Frage der Konzentration, der Einwirkungszeit und der Temperatur sein.

Caldwell erhielt nämlich 1933 (zit. nach Caldwell 1936) mit geringer Konzentration bei pH 6 keine Inaktivierung, während er 1935 bei 2,5%iger Konzentration und dem gleichen pH-Wert eine teilweise Herabsetzung der Infektiosität feststellen konnte.

Stanley (1934) und Ross und Vinson (1937) beobachteten eine Inaktivierung des TMV durch Pepsin bei pH 3 und 37° C für mehrere Tage.

Beim X-Virus tritt eine deutliche auf Kombination beruhende Infektiositätsminderung durch Pepsin auf (Kleczkowski 1944); ebenso erfolgt eine völlige Destruktion des Aukubamosaikvirus der Tomate durch Zusatz von 1% Pepsin bei pH 2,5 und Bebrütung der Mischung bei 35° C für 48 Stunden (Caldwell 1936).

Die Ribonuklease ist gegenüber dem TMV hundertmal wirksamer als Trypsin, es erfolgt eine Kombination (Präzipitation) mit dem TMV, jedoch keine Hydrolyse. In salzfreien Lösungen entstehen bei der Kombination unlösliche parakristalline Fasern, die sich bei Salzzugabe auflösen.

Die Inaktivierung durch Ribonuklease ist völlig reversibel (Loring 1946, Kleczkowski 1946, Bawden und Kleczkowski 1948). Ribonuklease verändert wahrscheinlich die Wirtsempfänglichkeit. Der Hemmungseffekt des TMV ist nämlich bei der Testung auf *Nicotiana glutinosa* geringer als auf *Phaseolus vulgaris*. *Nic. glutinosa* kann die Kombinationskomplexe wahrscheinlich besser sprengen (Loring 1942).

Beim Kartoffel-X-Virus erfolgt durch die Ribonuklease auch nur eine Präzipitation und keine Hydrolyse, es verbindet sich mit weniger Ribonuklease als das TMV, trotzdem wird das X-Virus stärker inaktiviert als das TMV, was sich auch in einer Herabsetzung des serologischen Titers offenbart, und der nur schwachen, manchmal ganz fehlenden Reversibilität der Inaktivierung.

Die teilweise Reaktivierung kann durch Wiederauflösen der Präzipitate sehr schnell mit Trypsin erfolgen, etwas langsamer mit Boratpuffer. Der serologische Titer erreicht nach der Reaktivierung wieder seine ursprüngliche Höhe (Loring 1946, Kleczkowski 1946, Bawden und Kleczkowski 1948).

Das Pankreatin wurde 1951 als TMV-inaktivierend geschildert von Lojkin und Vinson (zit. nach Caldwell 1936).

Papain wirkt ebenfalls TMV-inaktivierend, aber nicht besonders stark, es erfolgt dabei eine Kombination zu unlöslichen Komplexen, jedoch keine Hydrolyse (Bawden und Pirie 1937).

5%ige Diastase bewirkte (JOHNSON 1941) bei vier Stunden Einwirkung eine starke, aber völlig reversible Inaktivierung des TMV.

b) Seren

Nach JOHNSON (1941) wirkt eine 1%ige Lösung von Pferdeserum bei 48 Stunden Einwirkung auf TMV-haltige Agarscheiben völlig inaktivierend. Der Einfluß ist sehr stark reversibel.

Bei Zusatz von 1 % Pferdeserum zu aukubamosaikhaltigem Tomatensaft der Verdünnung 1:16 ergab sich bei zwölfstündiger Einwirkung eine 66%ige Inaktivierung. In dem Versuch zeigte sich, daß die Inaktivierung um so größer war, je geringer die zugesetzte Virusmenge gewählt wurde (CALDWELL 1936).

FULTON (1943) erhielt eine völlige Inaktivierung der in verschiedener Verdünnung verwendeten Viren durch folgende Konzentrationen des Rinderserums:

TM (Verdünnung 1 : 10 000)	99 %
Bohnenmosaik (1 : 10)	5—10 %
Tabak-Ringfleckenmosaik (1 : 1000)	20—25 %
Gurkenmosaik (1 : 1000)	25—30 %
Kartoffel-X (1 : 100)	99 %

CALDWELL (1936) prüfte die Einwirkung von Kaninchenserum auf TMV-Saft und erhielt folgende Werte:

TMV (normale Konzentr.)	+ 50 %	Kaninchenserum	100 % Inaktivierung
TMV (normale Konzentr.)	+ 2 %	Kaninchenserum	50 % Inaktivierung
TMV (Verdünnung 1 : 5)	+ 10 %	Kaninchenserum	90 % Inaktivierung
TMV (Verdünnung 1 : 25)	+ 10 %	Kaninchenserum	95 % Inaktivierung
TMV (Verdünnung 1 : 125)	+ 10 %	Kaninchenserum	100 % Inaktivierung

Mit kleiner werdender Virusmenge zeigt sich, ebenso wie beim Pferdeserum gegenüber dem Aukubamosaikvirus, eine Zunahme der Inaktivierung des TMV.

PURDY (1929) verglich die inaktivierende Wirkung von Antiseren mit TMV bzw. gesundem Pflanzensaft immunisierter Kaninchen und die von Normalserum mit dem Ergebnis:

Antiserum (TMV)	80 % Inaktivierung
Antiserum (gesunder Pflanzensaft)	30 % Inaktivierung
Normalserum	6 % Inaktivierung

c) Blut

Gegenüber TMV wirkt Kaninchenblut in vitro inaktivierend, ebenso, wenn auch nicht ganz so stark, Rinder- und Pferdeblut. Aber auch in der Blutbahn des Kaninchens erfolgt eine Inaktivierung des TMV, es war nämlich schon drei bis 30 Minuten nach der Impfung nicht mehr wiederzugewinnen (MULVANIA 1926).

d) Eiweiß bzw. eiweißhaltige Substanzen

Kasein, Albumin und Pepton wirken bei 1%igem Zusatz auf TMV-Extrakte mehr oder weniger deutlich inaktivierend (CALDWELL 1936).

Handelsübliches Eiweiß (wohl Eiweißpulver) wirkte in 10%iger Lösung bei vier Stunden Einwirkungszeit auf TMV-Agarscheiben, wenn auch nicht völlig, so doch stark inaktivierend, ebenso unverdünnte Kuhmilch bei 48 Stunden Einwirkung, deren Inaktivator sich als besonders hitzestabil erwies. In beiden Fällen liegt weitgehende Reversibilität der Inaktivierung vor (Johnson 1941).

Nach Fulton (1943) wirkt frische Kuhmilch außer auf das TMV auch auf das Gurkenmosaik-, das Tabak-Ringfleckenmosaik-, das Kartoffel-X- und das Bohnenmosaikvirus inaktivierend.

7. Bakterien und Pilze als aktivitätsbeeinflussende Faktoren

Bei der Beurteilung der in den nachfolgenden tabellarischen Übersichten genannten Inaktivierungsprozente der einzelnen Mikroorganismen ist zu beachten, daß alle diese Werte nicht ohne weiteres vergleichbar sind, da die Autoren verschiedene Konzentrationen einerseits der Filtrate und Extrakte und andererseits der Viruszubereitungen verwendeten. In den Tabellen werden die jeweils höchsten Inaktivierungswerte aufgeführt, die der betreffende Autor mit den höchsten angewandten Konzentrationen des Inaktivators erhielt.

Um eine ungefähre Vergleichsbasis zu bekommen, werden zuerst die wesentliche Methodik eines jeden Autors sowie die besonders bedeutenden Ergebnisse kurz geschildert. Einzelheiten sind aus den tabellarischen Übersichten zu entnehmen.

Mulvania (1926) stellte als erster Untersuchungen auf diesem Gebiet an. Er kultivierte Bakterien in TMV-haltigen Nährböden und infizierte mit diesen Gemischen je fünf bis zehn Tabakpflanzen (*Nic. tabacum*). Die Zahl gelungener systematischer Infektionen wurde festgestellt und daraus auf die inaktivierende Kraft des jeweiligen Bakteriums geschlossen unter Berücksichtigung der Tatsache, daß auch der unbeimpfte Nährboden inaktivierend wirkte.

Johnson und Hoggan (1937) bewahrten TMV-haltigen Pflanzenextrakt und TMV-haltige Blattscheiben in Kulturfiltraten von Mikroorganismen für verschiedene Zeiten auf, außerdem mischten sie TMV mit normalem Boden und reinem Sand. Sie kommen, wie schon erwähnt, zu der Feststellung, daß in feuchtem, gut belüftetem Boden auf Grund der starken mikrobiellen Tätigkeit eine schnelle Zersetzung des TMV stattfindet. Im Blattgewebe greifen Bakterien das TMV weniger stark an, als Pilze das tun, die gute Cellulosezerstörer sind und dadurch zu einem schnelleren Kontakt mit dem TMV kommen.

Bei Belüftung der Pilz- und Bakterienfiltrate mit Hilfe von Schüttelapparaturen wurde die Inaktivierung des TMV deutlich gefördert. Wenn TMV-haltige Pflanzenextrakte allein 28 Tage belüftet wurden, erfolgte keine Inaktivierung, sondern sogar eine Stimulierung der Aktivität, im Gegensatz zu den Ergebnissen von Johnson und Ogden (1929).

GOLDIN (1938) beimpfte Mischungen von Nährboden und TMV-haltigem Tomatensaft mit Mikroorganismen und stellte u. a. fest, daß die Aktivität des TMV in *Torula kefiri*-Kulturen bereits am zweiten Tag völlig verlorengeht. Die Inaktivierung durch die untersuchten Mikroorganismen ist nicht nur durch pH-Wechsel bedingt. Auch ein direkter Abbau des TMV durch die Mikroorganismen scheint nicht stattzufinden, denn die Fäulnisbakterien

Escherichia coli (= Bacterium coli commune)
Proteus vulgaris (= Bacillus proteus vulgaris)
Serratia marcescens (=Bacterium prodigiosum)
Pseudomonas fluorescens (= Bacillus fluorescens liquefaciens)

können das Virus nicht als N-Quelle nutzen, wie in Nährlösung festgestellt wurde, die als einzige N-Quelle Virus enthielt. Auch nach GOLDINS Untersuchungen steigert gute Sauerstoffversorgung die Inaktivierung des TMV in Preßsäften wesentlich (sogar bei sterilen, d. h. bakterienfiltrierten). Diese Feststellung steht im Gegensatz zu den obengenannten Untersuchungsergebnissen von JOHNSON und HOGGAN (1937), jedoch in Übereinstimmung mit JOHNSON und OGDEN (1929).

GOLDIN erwähnt auch Untersuchungen von DUNIN (1935) mit TMV, die zu dem Ergebnis führten, daß eine Aufbewahrung des Virus in Kulturen von *Macrosporium solani* starke Veränderungen in seiner Formbildung verursache.

JOHNSON (1941) bewahrte TMV-haltige Agarscheiben nicht nur, wie schon besprochen, in Lösungen von Chemikalien, sondern auch in Pilzkulturfiltraten auf und erhielt mit *Aspergillus*- und *Aerobacter*-Filtrat eine völlige, weitgehend reversible Inaktivierung.

TAKAHASHI (1941 und 1942) behandelte TMV mit Extrakten von Brauerei- und Bäckereihefe, wobei eine besondere Alkohol-Extraktionsmethode zur Anwendung kam. Mit jeder Verdoppelung der Inaktivierungskonzentration ergab sich eine Halbierung des aktiven Virusgehaltes. Ein Versuch, viruskranke Rosen-, Pfirsich- und Birnenstecklinge durch Hineinstellen in Hefelösungen für mehrere Tage zu gesunden, hatte keinen Erfolg. Die auf gesunde Unterlagen gepfropften Stecklinge blieben krank. GUPTA und PRICE (1950) versetzten elf Teile Pufferlösung mit je einem Teil Pilzkulturfiltrat und einem Teil Pflanzenpreßsaft, der südliches Bohnenmosaik-Virus (SBM), TMV oder TNV enthielt, und stellten an Hand der Lokalläsionen auf den Testpflanzen die Inaktivierung der Viren in jedem Falle fest. In ihren Veröffentlichungen geben sie eine Einteilung der inaktivierenden Filtrate in zwei große Gruppen, nämlich solche, die bei einem der drei geprüften Viren weniger als 20 % und solche, die 20 bis 80 % inaktivierend wirken, ohne in jedem Falle genaue Angaben über den Infektiositätswert und das inaktivierte Virus zu machen.

Die Hemmstoffe von *Trichothecium roseum* und *Neurospora sitophila* untersuchten sie besonders eingehend. Gegenüber dem SBM erwiesen sich beide in Versuchen mit verschiedenen Virusverdünnungen als reversibel inaktivierend. Beide rufen in höchster Konzentration ohne Viruszusatz auf

den Testpflanzen sichtbare Verletzungen hervor. Sie wirken auch in Verdünnungen bis 1:1000 noch inaktivierend auf das SBM-Virus, dabei ist die Kontaktzeit zwischen Hemmstoff und Virus ohne Einfluß, die Inaktivierung tritt sofort nach dem Mischen ein; ja sogar, wenn der Hemmstoff vor der eigentlichen Virusabreibung auf die Testpflanze gebracht wird, tritt dieselbe Hemmung wie bei direkter Mischung ein.

1952 äußern Gupta und Price die Ansicht, daß der Hemmstoff des *Trichothecium roseum*-Filtrates die Wirtsempfänglichkeit verändert und die Hemmungsaktivität des Filtrates deutlich abhängig ist von der Wirtspflanze. Sie begründen das besonders damit, daß die Inaktivierung des Virus um so stärker ist, je länger die Kontaktzeit zwischen Hemmstoff und Blatt ist, wobei eine Zeit bis zu 80 Minuten geprüft wurde.

Die Hemmstoffe von *Neurospora sitophila* und *Trichothecium roseum* sind besonders widerstandsfähig, sie werden durch Kochen und Einfrieren nicht zerstört. Durch Dialyse wird *Trichothecium roseum* in seiner inaktivierenden Wirksamkeit nur in ganz geringem Maße geschwächt.

Klinkowski (1954) mischte einen Teil TMV-haltigen Preßsaft mit einem Teil Kulturfiltrat bzw. dem Extrakt der sich im Kulturgefäß entwickelnden Myzeldecken von *Botrytis cinerea* und *Rhizoctonia solani*. Die Abreibungen erfolgten nach 16 bis 18 Stunden auf *Nicotiana glutinosa*.

Bei der Prüfung von Hutpilzen wurde ein Teil TMV-haltiger Preßsaft mit zwei Teilen eines in der Regel wässerigen Extraktes des lufttrockenen Pilzmaterials angesetzt.

Bei Versuchen mit *Lycoperdon gemmatum* wurde das lufttrockene Material auf sieben verschiedene Arten extrahiert. Es erwies sich dabei, daß das wirksame Agens wasserlöslich und mit Äther nicht extrahierbar ist, da ein wässeriger Extrakt sowie der wässerige Anteil des Ätherextrakts die höchste inaktivierende Wirksamkeit zeigten. Trotzdem wird zur Abtrennung der Schleimsubstanzen eine Ätherausschüttelung empfohlen.

Die wirksame Substanz sämtlicher geprüfter Hutpilze erwies sich in hohem Grade als hitzestabil bei 100 ° C/10 Min. Versuche einer inneren Therapie zeitigten keinerlei Erfolg, indem bei einer Behandlung von Samsun-Tabakpflanzen mit Extrakten bzw. Kulturfiltraten von *Amanita muscaria, Botrytis cinerea, Rhizoctonia solani, Penicillium chrysogenum* und *Streptomyces griseus* kein Inaktivierungseffekt festzustellen war.

Der Inaktivierungseffekt erwies sich, gezeigt am Beispiel verschiedener *Penicillium*stämme, abhängig von der Kulturdauer des Pilzes und insbesondere von der Kontaktzeit („Karenzzeit") zwischen TMV und Kulturfiltrat. Es wurde festgestellt, daß sich bei Abreibung von TMV-*Penicillium*filtrat-Gemischen unmittelbar nach dem Mischen und nach 18stündiger Kontaktzeit wesentliche Unterschiede in der Inaktivierung ergaben. Aus dieser Tatsache wurde gefolgert, daß in diesem Falle nicht die Empfänglichkeit der Wirtspflanze verändert wird, sondern eine hochgradige Inaktivierung des TMV in vitro erfolgt. Diese Ansicht wurde unterbaut durch mikroskopische Untersuchungen von Blattquerschnitten und Oberflächenschnitten, in denen sich die

Stomata der mit dem TMV-*Penicillium*filtrat-Gemisch nach 24stündiger Kontaktzeit infizierten Pflanzen normal turgeszent und voll funktionsfähig erwiesen, während sie bei reinen TMV-Infektionen nekrotisch waren.

UTECH und JOHNSON (1950) arbeiteten mit TMV, in einigen Fällen auch mit Tabak-Ringfleckenmosaik-, Tabakstrichel-, Gurkenmosaik-, Kartoffel-X- und Blumenkohlmosaik-Virus. Die bakteriellen bzw. pilzlichen Inaktivatoren wurden in Form von 50%ig verdünnten Filtraten verschieden alter Kulturen oder in Form von verdünnten Extrakten, insbesondere bei fleischigen *Basidiomyceten*, mit dem Virus gemischt und auf Testpflanzen ausgetestet.

Die Verfasser kommen zu dem Ergebnis, daß die Aktivität eines Inaktivators nicht nur durch eine einzige chemische Komponente bedingt zu sein scheint. Bei der Betrachtung der einzelnen Klassen der untersuchten Pilze ergab sich: Die *Basidiomyceten* sind in ihrem inaktivierenden Verhalten am stärksten und am meisten ausgeglichen.

Die *Phycomyceten* zeigen eine etwa 90%ige Inaktivierung, werden jedoch nicht als besonders starke Inaktivatoren angesprochen, da sie bei Verdünnung sehr stark in ihrer Wirkung nachlassen. Die *Ascomyceten* und die *Fungi imperfecti* sind nach Meinung der Autoren nur mäßige Inaktivatoren. Auffallend ist die Trocknungsstabilität (bei Zimmertemperatur) der meisten untersuchten Substanzen; so waren viele der getesteten *Basidiomyceten* schon

---

Erklärungen zur Tabelle 2 über die inaktivierende Wirkung von Bakterien und Pilzen.

Die einzelnen Verfasser werden mit folgenden Abkürzungen bezeichnet:

MULVANIA 1926 (M),	JOHNSON und HOGGAN 1937 (J + H),
GOLDIN 1938 (G),	JOHNSON 1941 (J),
TAKAHASHI 1941 u. 1942 (T),	GUPTA und PRICE 1950 (G + P),
UTECH und JOHNSON 1950 (U + J),	KLINKOWSKI 1954 (K).

Diese abgekürzten Namen der Autoren, von denen die Angabe über die prozentuale Inaktivierung stammt, werden in der rechten Spalte genannt. Wurden von anderen Autoren andere Ergebnisse erzielt, so sind diese ebenfalls in der rechten Spalte vermerkt. Die Prozentangaben beziehen sich in der Regel auf das TMV mit Ausnahme der Zahlen von GUPTA und PRICE 1950, wo es sich um maximale Inaktivierungswerte handelt, die gegenüber einem der drei Viren SBM, TMV, TNV erreicht wurden. Soweit bei den Autoren ersichtlich, wurde das betreffende Virus in der Tabelle aufgeführt.

In der linken Spalte wurden die Mikroorganismenarten besonders gekennzeichnet, bei denen, nach den Angaben von HERREL und SCHULZE (1949), VOGEL (1951) und KÖHLER, H. (1953) bestimmte Stämme als Antibiotikabildner bekannt sind.

B = antibiotische Wirksamkeit gegenüber Bakterien.
P = antibiotische Wirksamkeit gegenüber Pilzen.

Tabelle 2

Die inaktivierende Wirksamkeit von Bakterien und Pilzen

a) Inaktivierung durch Schizomyceten

P	100 %	*Serratia marcescens (= Bacterium prodigiosum)*	J+H; 91,7 % U+J; stark M
	100 %	*Aerobacter aerogenes*	J+H und U+J, in best. Ausmaß reversibel; 99,5 % J; stark M
	völlig	*Serratia kilensis (= Bacillus ruber balticus = Bacterium prodigiosum)*	M; 95,6 % J+H
	99,9 %	*Pseudomonas solanacearum*	U+J
	99,8 %	*Bacterium stewartii*	U+J, in best. Ausmaß reversibel; 40,6 % J+H
	99,4 %	*Erwinia carotovora*	J+H; 76—100 % U+J
	98,7 %	*Proteus vulgaris*	J+H; 90,4 % U+J; stark M
	98,7 %	*Escherichia coli (Bacterium coli commune)*	J+H; stark M; etwas inaktivierend G
	96,5 %	*Pseudomonas angulata*	J+H
B	95 %	*Pseudomonas aeruginosa*	U+J
	90,9 %	*Cytophaga hutchinsonii*	J+H
	90,7 %	*Pseudomonas tabaci*	J+H; 26—50 % U+J
B P	90,5 %	*Bacillus subtilis*	J+H, 61,6 % U+J; wenig M
	89 % SBM	*Actinomyces sp.*	G+P; 26—50 % für einige andere Viren U+J
	77,3 %	*Streptomyces scabies*	J+H
	76—100 %	*Pseudomonas syringae*	U+J
	stark	*Salmonella choleraesuis (= Bacterium suipestifer)*	M
	73,5 %	*Xanthomonas phaseoli*	J+H
	72,2 %	*Sarcina lutea*	J+H; stark M
	71,6 %	*Xanthomonas translucens*	U+J
	67,4 %	*Micrococcus pyogenes var. aureus (= Staphylococcus aureus)*	J+H; 26—50 % U+J
	62,7 %	*Agrobacterium tumefaciens*	J+H; 0—25 % U+J
	61,4 %	*Bacillus cereus var. mycoides*	J+H; 0—25 % U+J; geringe oder keine Inaktivierung, kann bei pH 5,3 vom TMV adsorbiert werden G
	57,8 %	*Agrobacterium radiobacter*	J+H; 40,5 % U+J
	54 %	*Corynebacterium fascians*	U+J
	mittelstark	Cellulosevergärendes Bacterium	M
	mittelstark	*Bacillus cereus (= Bacterium anthracoides*	M
B	26—50 %	*Bacillus brevis*	U+J
	wenig	*Achromobacter hartlebii*	M
	8,9 %	*Pseudomonas fluorescens*	J+H
	0—25 %	*Xanthomonas campestris*	U+J
	0—25 %	*Xanthomonas beticola*	U+J
	0—25 %	*Agrobacterium rhizogenes*	U+J

Tabelle 2 (Fortsetzung)

		b) Inaktivierung durch Phycomyceten	
	99,2 %	*Sporodinia grandis*	U+J
	99,1 %	*Pilobolus sp.*	J+H
	98,1 %	*Rhizopus delemar*	U+J
	92,8 %	*Mucor racemosus*	U+J
	92,8 %	*Thamnidium elegans*	U+J
	91,3 %	*Rhizopus nigricans*	U+J
	76—100 %	*Rhizopus ssp.* (Plus- und Minusstämme)	U+J
	76—100 %	*Mucor hiemalis*	U+J
	76—100 %	*Mucor mucedo*	U+J
	76—100 %	*Pythium debaryanum*	U+J
	76—100 %	*Absidia sp.*	U+J
	65,8 %	*Mortierella candelabrum*	U+J
	51—75 %	*Rhizopus pygmaeus*	U+J
	26—50 %	*Circinella spinosa*	U+J
	26—50 %	*Cunninghamella sp.*	U+J
	20—80 %	*Choanephora cucurbitarum*	G+P
		c) Inaktivierung durch Ascomyceten	
	100 %	*Venturia inaequalis*	J+H
	100 %	*Aspergillus sp.*	J weitgehend reversibel
	100 %	*Aspergillus niger*	J+H
	100 %	*Chaetomium globosum*	J+H
	100 % SBM	*Guignardia bidwelli*	G+P
	68 % TMV		
	37 % TNV		
	99,8 %	*Rhodotorula sp.*	U+J
	99,8 %	*Penicillium spiculosporum*	U+J
BP	99,5 %	*Aspergillus flavus*	J+H
BP	99,4 %	*Aspergillus ochraceus*	J+H
	99,2 %	*Penicillium baiicolum*	J+H
	99 % SMB	*Neurospora sitophila*	G+P durch Verdünnung reversibel
	99 %	*Gibberella saubinetii*	U+J; 98,5 % J+H
	99 %	*Sclerotinia fructigena*	J+H
	98,8 %	*Morchella sp.*	U+J
	98,6 %	Bäckerei- und Brauereihefe	T
	97,4 %	*Aspergillus terreus*	J+H
BP	96,5 %	*Pyronema sp.*	J+H
	91 % SBM	*Aspergillus niger*	G+P
	76,2 %	*Sclerotinia fructicola*	U+J; 20—80 % G+P
	76—100 %	*Saccharomyces sp.*	U+J; 73,7 % J+H
	65,9 %	*Glomerella cingulata*	U+J; 20—80 % G+P
	51—75 %	*Penicillium sp.*	U+J
	20—80 %	*Aspergillus quercinus*	G+P
	20—80 %	*Aspergillus rugulosus*	G+P
	20—80 %	*Chaetomium convolutum*	G+P
	20—80 %	*Daldinia concentrica*	G+P
	20—80 %	*Monascus purpureus*	G+P
	20—80 %	*Sordaria sp.*	G+P

Tabelle 2 (Fortsetzung)

	20—80 %	*Xylaria mali*	G+P
	etwas inaktivierend in konz. Form	*Saccharomyces cerevisiae*	G
	etwas inaktivierend in verd. Form	*Saccharomyces ellipsoideus*	G
	etwas inaktivierend in verd. Form	*Schizosaccharomyces pombe*	G kann bei pH 5,3 vom TMV adsorbiert werden, ohne zu inaktivieren
	etwas inaktivierend in verd. Form	*Debaryomyces tyrocola*	G
B P	weniger als 20 %	*Penicillium expansum*	G+P
	weniger als 20 %	*Sclerotinia minor*	G+P
	weniger als 20 %	*Sclerotina bataticola*	G+P
	weniger als 20 %	*Stromatinia smilacinae*	G+P
		d) Inaktivierung durch Basidiomyceten	
	100 %	*Boletinus (= Polystictus) pictus*	U+J
	100 %	*Tricholoma personatum*	U+J
	100 %	*Armillaria mellea*	U+J; 93,3 % K
	100 %	*Clitocybe sp.*	K
	100 %	*Hypholoma sublateritium*	K
B	99,8 %	*Lactarius deliciosus*	U+J
	99,8 %	*Amanita phalloides*	U+J; 99,4 % K
	99,4 %	*Cantharellus aurantiacus*	K
	99,2 %	*Coprinus micaceus*	U + J in bestimmtem Ausmaß reversibel
	98,9 %	*Amanita muscaria*	K; 76—100 % U+J
	98,8 %	*Agaricus campestris*	U+J
	98,5 %	*Rhizoctonia solani*	K; 98,2 % J+H
	97,8 %	*Lycoperdon gemmatum*	K
	97,3 %	*Gymnosporangium juniperi-virginiae*	U+J
	96 %	*Trametes gibbosa*	K
	88 % SMB	*Polyporus arcularius*	G+P
	82,8 %	*Lactarius turpis*	K
	76—100 %	*Pisolithus sp.*	U+J
	76—100 %	*Polyporus sp.*	U+J
	76—100 %	*Coprinus comatus*	U+J
	76—100 %	*Coprinus atramentarius*	U+J
	76—100 %	*Favolus sp..*	U+J
	76—100 %	*Clitocybe illudens*	U+J
	76—100 %	*Lycoperdon sp.*	U+J
	76—100 %	*Lycoperdon cruciatum*	U+J
	76—100 %	*Lycoperdon priforme*	U+J
	76—100 %	*Lycoperdon wrightii*	U+J
	76—100 %	*Entyloma sp.*	U+J
	76—100 %	*Lactarius melleus*	U+J
	76—100 %	*Collybia sp.*	U+J
	76—100 %	*Boletus ssp.*	U+J
	76—100 %	*Lepiota naucina*	U+J
	76—100 %	*Lepiota sp.*	U+J

Tabelle 2 (Fortsetzung)

	76—100 %	*Merulius sp.*	U+J
	76—100 %	*Pleurotus ulmarius*	U+J
	76—100 %	*Pleurotus ostreatus*	U+J
	76—100 %	*Tricholoma flavobrunneum*	U+J
	42 %	*Trametes serialis*	K

e) Inaktivierung durch *Fungi imperfecti*

	100 %	*Diplodia zeae*	J+H; 20—80 % G+P
	100 %	*Septoria lycopersici*	J+H
	100 %	*Botrytis cinerea*	K; 99,2 % J+H
	99,5 %	*Trichoderma sp.*	J+H; weniger als 20 % G+P
B P	99 % TMV	*Trichothecium roseum*	G+P bei SBM durch Verdünnung reversibel
	98 % SBM		
	70 % TNV		
P	98,5 %	*Fusarium orthoceras*	J+H
	98 % TNV	*Trichophyton mentagrophytes*	G+P
	89 % TMV		
	87 % SBM		
	95 %	*Macrosporium solani*	J+H; 89,5 % U+J
	96,3 %	*Fusarium oxysporum*	J+H
	93,3 %	*Torula kefiri*	G
	93,3 %	*Cercospora nicotianae*	J+H
	89,9 %	*Colletotrichum graminicolum*	U+J
	82,2 %	*Fusarium oxysporum f. conglutinans*	U+J
	82,2 %	*Colletotrichum pisi*	U+J
	80,4 %	*Phoma terrestris*	U+J
	79,9 %	*Colletotrichum circinans*	U+J
	73,3 %	*Helminthosporium gramineum*	J+H
	76—100 %	*Trichocladium asperum*	U+J
	51—75 %	*Colletotrichum phomoides*	U+J
	51—75 %	*Helminthosporium turcinum*	U+J
	31 % SBM	*Pestalozzia sp.*	G+P
	20—80 %	*Alternaria carotae*	G+P
	20—80 %	*Botrytis sp.*	G+P
	20—80 %	*Colletotrichum cereale*	G+P
	20—80 %	*Colletotrichum lagenarium*	G+P
	20—80 %	*Colletotrichum lindemuthianum*	G+P
	20—80 %	*Fusarium avenaceum*	G+P
	20—80 %	*Gloeosporium bolleyi*	G+P
	20—80 %	*Helminthosporium avenae*	G+P
	20—80 %	*Sepedonicum chrysospermum*	G+P
	20—80 %	*Spondylocladium sp.*	G+P
	weniger als 20 %	*Helminthosporium victoriae*	G+P

15 Jahre alt, *Aerobacter aerogenes*-Filtrate sollen in getrocknetem Zustande noch nach zehn Jahren wirksam sein. Bei höherer Temperatur (100 ° C) verloren allerdings die Filtrat-Trocknungsprodukte von *Bacterium stewartii* und *Aerobacter aerogenes* ihre inaktivierende Kraft etwas, während sich *Coprinus micaceus* als relativ stabil erwies. Auch nach Alkoholbehandlung waren die stärkeren Inaktivatoren voll aktiv, ebenso der von *Bacterium stewartii* durch Fällung mit n/20 HCl hergestellte Niederschlag.

Die Inaktivatorbildung in Filtraten ist optimal bei optimalen Wachstumsbedingungen für die betreffenden Mikroorganismen. Wenn das schnelle Wachstum der Kulturen aufgehört hat, hält sich der Inaktivatorgehalt für lange Zeit auf einer maximalen Höhe.

Die Wirkung des Inaktivators erwies sich bei *Coprinus micaceus* und *Pseudomonas aeruginosa* als gleich hoch gegenüber dem TMV, dem Tabak-Ringfleckenmosaik-, dem Tabakstrichel-, dem Kartoffel-X-, dem Gurkenmosaik- und dem Blumenkohlmosaik-Virus *Rhodotorula sp.* erwies sich dagegen als nicht so ausgeglichen, da von ihm das Tabak-Ringfleckenmosaik- und das Gurkenmosaik-Virus nicht so stark inaktiviert wurden wie die anderen Viren.

Die Verfasser stellen u. a. fest, daß auffallenderweise die Species, die besonders aktiv in der Produktion von Antibiotika sind, z. B. *Penicillium* und *Actinomyces* (= *Streptomyces*) ssp., nur kleine bis mäßige Mengen Virus inaktivieren. Die Untersuchungen von Leben und Fulton (1951) weisen in die gleiche Richtung. Sie erreichten durch *Streptomycin* und *Terramycin* zwar in der Pflanze eine Herabsetzung der Symptome, aber keine Inaktivierung in vitro.

Die gleiche Tendenz zeigt sich in der tabellarischen Übersicht. Von den vielen geprüften Mikroorganismenarten, die auf Viren, und insbesondere auf das TMV inaktivierend wirken, haben nur elf Mikroorganismenarten bestimmte Stämme mit antibiotischer Wirksamkeit gegenüber Bakterien oder Pilzen (nach Herrel-Schulze 1949, Vogel 1951 und Köhler, H. 1953).

Dabei können natürlich nur die systematisch genau bestimmten Arten berücksichtigt werden.

Es ist allerdings auffallend, daß von diesen wenigen Arten neun eine sehr hohe inaktivierende Wirksamkeit gegenüber dem TMV haben, nämlich eine solche von über 90 % !

8. Pflanzliche Preßsäfte als aktivitätsbeeinflussende Faktoren

Alle zugänglichen Angaben über dieses Gebiet wurden in der tabellarischen Übersicht (Tabelle 3) so zusammengestellt, daß auf eine eingehende Besprechung der Einzelergebnisse verzichtet werden kann. Es ist zur Tabelle selbst aber zu bemerken, daß, ebenso wie bei den Versuchen über die Inaktivierung durch Mikroorganismen, auch im Falle der pflanzlichen Preßsäfte ein Vergleich der Angaben der einzelnen Autoren nicht ohne weiteres möglich ist, da Angaben über die verwendeten Konzentrationen von Preßsäften und Viren und ihr Mischungsverhältnis nicht von allen Autoren gemacht wurden bzw. in den zugänglichen Referaten nicht erwähnt wurden.

Tabelle 3 Inaktivierung durch pflanzliche Preßsäfte

Familie — Gattung — Art	Deutscher Name	Wenn nicht Blattextrakt, Anwendungsform, Konzentration	Virus	Inaktivierung	Besondere Bemerkungen	Autor
Polypodiaceae						
Onoclea sensibilis	Straußfarn	Preßsaftverdünnung	TMV, Kartoffel-X	teilweise		MANIL 1949
Pteridium aquilinum	Adlerfarn	Preßsaftverdünnung	TMV, Kartoffel-X, Tabak-Ringfleckenmosaik	nicht deutlich oder nicht		MANIL 1949
Scolopendrium vulgare	Hirschzunge	Preßsaftverdünnung	TMV, Kartoffel-X Tabak-Ringfleckenmosaik	nicht deutlich oder nicht		MANIL 1949
Palmae						
Acrocomia totai		Palmkernextrakt	TMV	ja	Inaktivierend bei direkter Mischung und auch wenn 5 Std. vor der TMV-Verimpfung auf den Test-Tabak gebracht	LUCARDIE 1951
Elaeis sp.	Ölpalme	Palmkernextrakt	TMV	ja		
Liliaceae						
Allium sp.	Zwiebelart	Zwiebelextrakt, 100%ig	TMV	mittelstark (55,4 %)	Sehr wenig reversibel, nach Reversibilitätsprobe noch zu 42 % inaktiviert	JOHNSON 1941
Allium cepa	Sommerzwiebel	Blattpreßsaft, verdünnt	TMV, TNV	nicht deutlich oder nicht		MANIL 1949
Convallaria majalis	Schneeglöckchen	Preßsaft, verdünnt	TMV, TNV, Tabak-Ringfleckenmosaik	stark		MANIL 1949
Polygonaceae						
Rumex scutatum	Schildampfer	Preßsaft, verdünnt	TMV, TNV	nicht deutlich oder nicht		MANIL 1949
Polygonum bistorta	Wiesenknöterich	Preßsaft, verdünnt	TMV, TNV	nicht deutlich oder nicht		MANIL 1949

Chenopodiaceae						
Spinacia oleracea	Spinat	Preßsaft, 50% der Mischung	TMV	ja vollständig	Extrakt 15 Monate haltbar ohne Zerstörung der inaktivierenden Wirksamkeit; Inaktivierung zwischen pH 3 und pH 9,5 wenig beeinflußt. Extrakt enthält zwei Inaktivierungsfaktoren: 1. Sehr labiler, gegen TMV wirksam; wird durch Erhitzung auf 70%/10 Min., Dialyse, extrem saure oder alkalische Lösungen, Präzipitation mittels Alkohol und Adsorbierung an Holzkohle unwirksam. Inaktivierung reversibel durch Adsorbierung des Inaktivators an Holzkohle.	Kuntz u. Walker 1946/47
Spinacia oleracea	Spinat	Preßsaft, 50% der Mischung	Wasserrüben-mosaik	ja, vollständig	2. Sehr stabiler, gegen Kohlmosaik wirksam, bleibt bei Erhitzung auf 125%/15 Min. aktiv, ist dialysierbar, wird durch Alkohol nicht präzipitiert und durch Holzkohle nicht adsorbiert. Inaktivierung reversibel durch Zugabe von Calciumchlorid	
Spinacia oleracea	Spinat	Preßsaft, 50% der Mischung	Tabak-Ring-fleckenmosaik Kartoffel-X, Gurken-mosaik	völlig oder sehr stark		Kuntz und Walker 1946, bestätigt von Johnson und Grant 1932 f. Tabak-Ringfleckenmosaik von Sill und Walker 1952 für Gurkenmosaikvirus
Spinacia oleracea	Spinat	Preßsaft	TMV	ja		Grant 1934
Beta vulgaris var. cicla	Mangold	Preßsaft	TMV	ja		Grant 1934
Beta vulgaris var. rapa	Futterrübe	Preßsaft	TMV	ja		Grant 1934

Tabelle 3 (Fortsetzung)

Familie — Gattung — Art	Deutscher Name	Wenn nicht Blattextrakt, Anwendungsform, Konzentration	Virus	Inaktivierung	Besondere Bemerkungen	Autor
Beta vulgaris var. rapa	Futterrübe	Preßsaft	Wasserrübenmosaik	vollständig oder fast vollständig		KUNTZ u. WALKER 1947
Beta vulgaris var. rapa	Zuckerrübe	Preßsaft	Wasserrübenmosaik	vollständig oder fast vollständig		KUNTZ u. WALKER 1947
Beta vulgaris var. rapa	Rote Rübe	Preßsaft	Wasserrübenmosaik	vollständig oder fast vollständig		KUNTZ u. WALKER 1947
Chenopodium bonus henricus	Guter Heinrich	Preßsaftverdünnung	TMV, TNV, Kartoffel-X, Tabak-Ringfleckenmosaik	ja	Bei Verdünnung 1 Teil Virussaft : 0,05 Teile *Chenopodium*-Preßsaft hörte die Hemmung auf. Aktivität fast unabhängig vom pH-Wert, jedoch nach Passage von Bakterienfiltern und Fällung mit Ammoniumsulfat stark herabgesetzt. Bei 60° Erhitzung Aktivität des *Chenopodium*-Preßsaftes weitgehend erhalten	MANIL 1949
Chenopodium album	Weißer Gänsefuß	Preßsaftverdünnung	TMV, TNV, Tabak-Ringfleckenmosaik	ja, aber nicht so stark wie *Chenopodium bonus henricus*		
Phytolaccaceae						
Phytolacca decandra	Kermesbeere	Preßsaft	TMV, Bohnenmosaik, Tabak-Ringfleckenmosaik, Gurkenmosaik, Kartoffel-X	ja		FULTON 1943
Phytolacca decandra	Kermesbeere		TMV	ja, Zerstörer des Virus		(DUGGAR u. ARMSTRONG 1925)

Phytolacca americana	Kermesbeere	Preßsaft, 0,003 %	TMV	ja	Extrakt hat Saponinreaktion und verliert seine inaktivierende Wirkung bei 90°—92° C/20 Min.	Yoshida u. Suda 1947
Phytolacca rigida	Kermesbeere	Preßsaft, 1%ig	TMV	völlig	Nicht reversibel, nach Reversibilitätstest 100 % Inaktivierung	Johnson 1941
Phytolacca rigida	Kermesbeere	Preßsaft	TMV	ja		Grant 1934
Caryophyllaceae						
Dianthus sp.	Nelken	Preßsaft	TMV, TNV	ja, stark	„Relativer" Inaktivator, denn er wirkt nicht bei Übertragung von Nelke auf Nelke	van der Want 1951
Dianthus barbatus	Bartnelke	Preßsaft	TMV, Tabakstrichel, Gurkenmosaik	ja	Nach Erhitzung auf 80° C Inaktivator unwirksam. Nichtanfälligkeit gegenüber dem Tabakstrichel-Virus wird bei einigen Klonen von *Dianthus barbatus* auf den Inaktivator zurückgeführt	Weintraub u. Gilpatrick 1952
Silene saxifraga	Leimkraut	Preßsaft	TMV	nicht deutlich oder nicht		Manil 1949
Papaveraceae						
Chelidonium majus	Schellkraut	Preßsaftverdünnung	TMV	nicht deutlich oder nicht		Manil 1949
Cruciferae						
Cochlearia armoracia	Meerrettich	Preßsaftverdünnung	TMV	nicht deutlich oder nicht		Manil 1949
Crassulaceae						
Sedum telephium	Fette Henne	Preßsaftverdünnung	TMV	nicht deutlich oder nicht		Manil 1949
Saxifragaceae						
Saxifraga crassifolia	Steinbrechart	Preßsaftverdünnung	TMV, TNV	teilweise		Manil 1949
Heuchera micrantha	Heuchera	Preßsaftverdünnung	TMV	teilweise		Manil 1949
Astilbe japonica	Federrispenspiere	Preßsaftverdünnung	TMV	nicht deutlich oder nicht		Manil 1949
Rosaceae						
Fragaria vesca	Walderdbeere	Preßsaftverdünnung	TMV, TNV	stark	Tanningehalt	Manil 1949
Fragaria sp.	Erdbeere	Preßsaft	TMV	ja	Tanningehalt	Bawden u. Kleczkowski 1945, zitiert nach Manil 1949
Rubus idaeus	Himbeere	Preßsaft	TMV	ja	Tanningehalt	

Tabelle 3 (Fortsetzung)

Familie — Gattung — Art	Deutscher Name	Wenn nicht Blattextrakt, Anwendungsform, Konzentration	Virus	Inaktivierung	Besondere Bemerkungen	Autor
Leguminosae						
Lupinus albus	Weiße Lupine	Preßsaftverdünnung	TMV	nicht deutlich oder nicht		Manil 1949
Dolichos lablab	Lablab-Bohne	Wurzelsaft und Blattpreßsaft	TMV	völlig bzw. fast völlig inaktivierend		Fulton 1941
Geraniaceae						
Pelargonium zonale	Pelargonie	Preßsaft	TMV	ja	Durch Kombination des Tannins mit dem Proteinkomplex bedingt. Reversibel bei pH 8,2	Hirth 1951
Rutaceae						
Citrus media	Zitrone	Fruchtsaft, 100%ig	TMV	stark (67,8 %)	Reversibel, bei Reversibilitätstest sogar Stimulierung von + 14 % über die Kontrolle hinaus	Johnson 1941
Citrus aurantium	Orange	Fruchtsaft, 100%ig	TMV	wenig (14 %)	Reversibel, bei Reversibilitätstest Stimulierung auf + 14 %	Johnson 1941
Citrus decumana	Pampelmuse	Fruchtsaft, 100%ig	TMV	wenig (14 %)		
Umbelliferae						
Angelica officinalis	Angelika	Preßsaftverdünnung	TMV	nicht deutlich oder nicht		Manil 1949
Primulaceae						
Primula officinalis	Duftende Schlüsselblume	Preßsaftverdünnung	TMV	etwas inaktivierend		Manil 1949
Asclepidiaceae						
Vincetoxicum nigrum	Schwalbenwurzart	Preßsaftverdünnung	TMV	nicht deutlich oder nicht		Manil 1949
Polemoniaceae						
Phlox paniculata	Phlox	Preßsaftverdünnung	TMV	nicht deutlich oder nicht		Manil 1949
Borraginaceae						
Anchusa officinalis	Acker-Ochsenzunge	Preßsaftverdünnung	TMV	nicht deutlich oder nicht		Manil 1949
Labiatae						
Mentha rotundifolia	Rundblättrige Minze	Preßsaftverdünnung	TMV	nicht deutlich oder nicht		Manil 1949

Solanaceae						
Nicotiana glutinosa	Tabak	Preßsaft	TMV	etwas hemmend		Marcks Franke 1938
Nicotiana glutinosa	Tabak	Preßsaft	Gurken-mosaik	mäßig oder gering hemmend		Sill u. Walker 1952
Nicotiana sp.	Tabak	Preßsaft	TMV	ja	Preßsaft von infizierten Tabakpflanzen wirkt stärker inaktivierend als Saft von gesunden Pflanzen. Hemmstoff kochbeständig und in Butanol löslich, also kein Eiweißstoff	Schramm 1954
Nicotiana sp.	Tabak	Preßsaft	Gurken-mosaik	mäßig oder gering hemmend		Sill u. Walker 1952
Nicotiana sp.	Tabak	Mazeriertes Gewebe gesunder u. kranker Tabakpflanzen	Tabakstrichel	ja, etwas	Wirkung des Inaktivators kann durch reduzierende Agenzien (0,01 mol Cystein, Natriumsufit und 40 mg/1 ccm Eisenfeilspäne) verhindert werden	Fulton 1949
Nicotiana sp.	Tabak	Samenextrakte	TMV	ja	In Samen, besonders zur Zeit der Reife und der Keimung, Inaktivator wasserlöslich, verträgt Hitzeeinwirkung und Säure, kann mit Alkohol aus einer wässerigen Lösung präzipitiert werden	Kausche 1940
Nicotiana sp.	Tabak	Wurzelsaft	TMV	ja, merklich inaktivierend	Reversibel durch Verdünnung. Durch Blattextrakte keine Inaktivierung!	Fulton 1941
Solanum lycopersicum	Tomate	Wurzelsaft	TMV	ja, merklich inaktivierend	Auch thermaler Inaktivierungspunkt bei TMV-haltigen Wurzelpreßsäften niedriger als bei Blattextrakten. Unterschied des Virusgehaltes in Wurzeln keine Konzentrationsfrage, sondern es liegt wohl direkte Inaktivierung vor	
Solanum lycopersicum	Tomate	Fruchtsaft, 100%ig	TMV	wenig (28,6 %)	Nicht reversibel, nach Reversibilitätsprobe erhöhte Inaktivierung von 42,8 %	Johnson 1941

Tabelle 3 (Fortsetzung)

Familie — Gattung — Art	Deutscher Name	Wenn nicht Blattextrakt, Anwendungsform, Konzentration	Virus	Inaktivierung	Besondere Bemerkungen	Autor
Solanum lycopersicum	Tomate	Blattpreßsaft	Gurkenmosaik	mäßig oder gering hemmend		Sill u. Walker 1952
Plantaginaceae						
Plantago maior	Breitwegerich	Preßsaftverdünnung	TMV	nicht deutlich oder nicht		Manil 1949
Rubiaceae						
Asperula cyanchica	Hügel-Meier	Preßsaftverdünnung	TMV	nicht deutlich oder nicht		Manil 1949
Caprifoliaceae						
Sambucus nigra	Schwarzer Holunder	Preßsaftverdünnung	TMV	nicht deutlich oder nicht		Manil 1949
Cucurbitaceae						
Cucumis sativus	Gartengurke	Wurzelsaft und Blattpreßsaft	TMV	ja, beide ~~merklich~~ inaktivierend		Fulton 1941
Cucumis melo	Melone	Pflanzenpreßsaft	Gurkenmosaik	stark		Sill u. Walker 1952
Cucurbita pepo	Kürbis	Pflanzenpreßsaft	Gurkenmosaik	mäßig oder gering		Sill u. Walker 1952
Compositae						
Helianthus annuus	Gemeine Sonnenblume	Blattpreßsaft	TMV	ja, merkliche Inaktivierung		Fulton 1941
Helianthus annuus	Gemeine Sonnenblume	Wurzelsaft	TMV	wenig inaktivierend		Fulton 1941
Helianthus rigidus	Rauhe Sonnenblume	Preßsaftverdünnung	TMV	nicht deutlich		Manil 1949
Artemisia vulgaris	Gemeiner Beifuß	Preßsaftverdünnung	TMV	nicht deutlich oder nicht		Manil 1949
Senecio jacobaea	Jakobskreuzkraut	Preßsaftverdünnung	TMV	nicht deutlich oder nicht		Manil 1949

Insgesamt wurden von verschiedenen Verfassern etwas über 50 pflanzliche Extrakte untersucht, die umfassendsten Angaben stammen dabei von Manil (1949), Kuntz und Walker (1947) und Fulton (1941), welche auch Bemerkungen über die Konzentrations- und Mischungsverhältnisse der Pflanzensäfte und Viren machen.

So mischte Manil (1949) 5 g zerkleinerte Blätter mit 15 ccm Wasser und filtrierte dann, ebenso wurden 5 g TMV-haltige zerkleinerte Tabakblätter mit 15 ccm Wasser vermischt und filtriert. Die Filtrate wurden zu gleichen Teilen gemischt und ausgetestet. Bei späteren Versuchen mit Farnarten verminderte er die Blattmenge und das zugesetzte Wasser auf 3 g bzw. 10 ccm.

Kuntz und Walker (1947) testeten Gemische von unverdünntem Spinatextrakt und der gleichen Menge einer TMV-haltigen Preßsaftverdünnung von 1 : 10, außerdem wurden weitere Verdünnungen des Spinatextraktes getestet.

Fulton (1941) arbeitete mit einer TMV-Verdünnung von 1 : 500.

Bei der Betrachtung der tabellarischen Übersicht fällt auf, daß die Vertreter der vielfach untersuchten Familie der *Chenopodiaceen* gegenüber vielen Viren besonders inaktivierend wirken, Köhler und Klinkowski (1954) machen hierfür in erster Linie den Saponingehalt der Preßsäfte verantwortlich. Es scheint aber so, daß die inaktivierende Wirksamkeit der *Chenopodiaceen* nicht auf einen einzigen Faktor zurückzuführen ist, wie etwa auf den Tanningehalt bei vielen anderen Pflanzenfamilien, sondern auf eine Summe von Faktoren.

Das geht besonders aus den Versuchen von Kuntz und Walker (1947) mit Spinatpreßsaft hervor, der sowohl das TMV als auch das Wasserrübenmosaikvirus vollständig inaktiviert. Der gegen TMV wirkende Faktor ist aber sehr empfindlich gegen alle möglichen Einflüsse und wird z. B. durch Erhitzung auf 70 ° C/10 Min. zerstört, während der gegen das Wasserrübenmosaikvirus wirkende Faktor bedeutend stabiler ist und auch nach einer Erhitzung auf 125 ° C/15 Min. noch aktiv ist.

Auffallend ist ebenfalls, daß verschiedene *Nicotiana*species in Form von Pflanzenpreßsaft, mazeriertem Gewebe gesunder und kranker Tabakpflanzen, Samenextrakt und Wurzelsaft inaktivierend wirken (näheres siehe Tabelle 3). Dieser Umstand weist darauf hin, daß auch innerhalb der Pflanze eine Inaktivierung erfolgen kann, worauf Köhler (1947) in Zusammenhang mit Betrachtungen über die Lokalisierungsresistenz aufmerksam macht, indem er feststellt, daß die Voraussetzung für die Bildung eines nekrotischen Infektionsfleckes, z. B. bei einer Infektion durch das TMV auf *Nicotiana glutinosa,* eine gewisse anfängliche Vermehrung des Virus im Infektionsherd ist. Die Nekrosenbildung ist dabei eine Seite der Reaktion auf das angereicherte Virus, die andere Seite ist die Inaktivierung des Virus. Je früher und intensiver die Reaktion vor sich geht, um so früher erfolgt auch ein Stillstand der Vermehrung und damit der Abwanderungsgefahr. Das Virus tritt dann ins Phloem über. Je zögernder aber die Reaktion erfolgt, um so größer wird auch der Vorsprung der Virusvermehrung gegenüber der Virusinaktivierung, um so mehr Virus tritt ins Phloem über, und um so stärker tritt die Inakti-

vierung im Phloem in den Vordergrund. Obwohl die Inaktivierung im Phloem und im Infektionsherd vermutlich durch den gleichen Mechanismus wirkt, verlaufen, wie KÖHLER (1947) hervorhebt, beide unabhängig voneinander. Dabei ist aber nicht gesagt, daß die Wirksamkeit in vivo auf die gleichen Substanzen zurückzuführen ist, die das Virus in vitro inaktivieren.

Das geht nach der Interpretation KÖHLERS (1954) besonders deutlich hervor aus den Untersuchungen von WEINTRAUB und GILPATRICK (1952). Danach sind Hemmstoffe, die auf das Tabak-Ringfleckenmosaik-Virus inaktivierend wirken, sowohl in Klonen der Nelkenart *Dianthus barbatus* vorhanden, die gegenüber dem Virus anfällig sind, als auch in solchen, die gegenüber dem Virus resistent sind.

Zur Ergänzung sei noch erwähnt, daß eine ganze Reihe von Pflanzenextrakten auch gegenüber Phagen wirken. So unterdrückten nach Untersuchungen von CHANTRILL, COULTHARD, DICKINSON, INKLEY, MORRIS und PYLE (1952) von 288 Pflanzenextrakten viele die Phagenentwicklung in *Pseudomonas pyocyanea*, davon wirkten acht in Konzentrationen, die ein Zehntel unter der den Wert beeinflussenden lagen. 12 von 142 Pflanzenextrakten unterdrücken die Influenza-A-Virus-Vermehrung in Eiern. Vier in Mäusen geprüfte Extrakte waren inaktiv. Acht Extrakte wurden näher untersucht, wobei sich herausstellte, daß sie nur bei direktem Kontakt mit dem Virus in proteinfreiem Medium aktiv waren und daß ihre Wirksamkeit durch Proteine völlig aufgehoben wurde.

Wie im Zusammenhang mit den Pflanzenviren schon erwähnt wurde, ist die Wirksamkeit der Pflanzenextrakte oft eng mit ihrem Tanningehalt verbunden, das gleiche zeigte sich auch im Hinblick auf die Wirksamkeit gegenüber Phagen, was besonders bestätigt wird durch die Tatsache, daß auch handelsübliches Tannin sich bei den Untersuchungen in proteinfreiem Medium als hochaktiv gegenüber den geprüften Phagen erwies.

9. Insektensaft als aktivitätsbeeinflussender Faktor

BLACK (1939) stellte fest, daß Zubereitungen von Insekten, die selbst Überträger pflanzlicher oder tierischer Viruskrankheiten sind, auf bestimmte Viren inaktivierend wirken.

Er erzielte mit sehr geringen Konzentrationen aller geprüften Insektenzubereitungen (15,5 mg auf 1 ccm TMV-haltige Preßsaftverdünnungen von 1 : 1000) eine völlige Inaktivierung des TMV. Geprüft wurden folgende Blattläuse und Zikaden bzw. Mücken:

Aceratagallia sanguinolenta,
Aedes aegyptii,
Doralis fabae (= Aphis rumicis),
Circulifer tenellus (= Eutettix tenellus),
Acyrthosiphon onobrychis (= Macrosiphon pisi),
Macrosiphon solanifolii,
Macrosteles divisus,
Myzodes persicae.

Aceratagallia sanguinolenta wurde besonders eingehend untersucht, wobei außer dem TMV noch bei folgenden Viren eine Hemmung festzustellen war:

Kartoffel-Gelbzwergigkeit,
Kartoffel-X,
Wasserrübenmosaik,
Tabak-Ringfleckenmosaik,
Tabaknekrose (TNV).

Dabei fällt besonders auf, daß Präparierungen des Insekts auch das Virus der Gelbzwergigkeit der Kartoffel hemmen, dessen Überträger das Insekt ist.

Die vollständige Inaktivierung des TMV durch *Aceratagallia sanguinolenta* ist unabhängig von der Kontaktzeit mit TMV-Verdünnung. Die Inaktivierung erwies sich als reversibel durch Verdünnung oder Ultrazentrifugierung des Gemisches, wobei im letzten Falle eine fast vollständige Trennung von Virus und Hemmstoff eintritt, die beide wieder voll aktiv waren.

Auch durch Ultrafiltration, Erhitzung auf über 80 ° C und Herstellung eines sauren Mediums unter pH 5,5 bzw. eines alkalischen Mediums über pH 8,7 kann die Hemmung in bestimmtem Maße aufgehoben werden.

Bei Dialyse blieb das Gemisch jedoch unverändert. Auch Johnson (1941) bewies, daß der Extrakt von nicht näher bezeichneten Blattläusen auf das TMV völlig inaktivierend wirkt.

10. Feststellungen über den Mechanismus der Hemmwirkung, die von allgemeiner Bedeutung sind

Wie schon aus den vorigen Abschnitten hervorgeht, ist die Hemmung eines Virus ein sehr komplizierter Vorgang, der sich nicht immer auf eine einzige bestimmte Ursache zurückführen läßt, sondern oftmals durch eine Summe von Faktoren bedingt ist.

Diese Faktoren üben aber nicht nur auf das Virus eine Wirkung aus, sondern beeinflussen sich auch gegenseitig. Näheres wurde schon im Zusammenhang und mit der Frage der Beeinflussung der Virusaktivität durch verschiedene pH-Werte erwähnt.

Allgemein stellten Kassanis und Kleczkowski (1948) fest, daß das Verhältnis, welches zwischen Hemmstoff und Virus notwendig ist, um die Infektiosität zu neutralisieren abnahm, sofern die Konzentration des Virus zunahm. Je höher also die Viruskonzentration ist, um so kleiner ist die Menge des Hemmstoffes, die zur Neutralisierung eines bestimmten Virusgemisches notwendig ist.

Dieses Ergebnis, das meiner Meinung nach mit einer Oberflächenreaktion zu vergleichen ist, unterscheidet sich wesentlich von Ergebnissen mit Toxin und Antitoxin, bei welchen sich äquivalente Mengen kombinieren müssen, damit sich eine Neutralisierung ergibt. Die Tatsache wird auch als Beweis

dafür angesehen, daß die Kombination zwischen Virus und Hemmstoff kein wesentlicher Teil der Hemmung sein dürfte.

Über den eigentlichen Prozeß der Hemmung ist wenig bekannt, lediglich die Gewißheit, daß die Viren und Hemmstoffe sich kombinieren, ohne daß das, wie schon gesagt, einen wesentlichen Teil im Ablauf des Hemmungsmechanismus darstellen dürfte und daß die Gegenwart eines Hemmstoffes die Infektion verhütet (BAWDEN 1950).

BAWDEN (1950) ist der Meinung, daß sich Hemmstoffe und Viren nicht nur untereinander, sondern beide auch mit Bestandteilen der Wirtszelle kombinieren, wobei die Kombination mit spezifischen Bestandteilen ein wichtiger Anfangsschritt bei der Virusvermehrung sein könnte.

Die Hemmstoffe können nun die Verhütung dieses ersten Schrittes bewirken, weil ihre Vereinigung mit den Viren die notwendige Kombination der Viren mit den Zellbestandteilen verhütet, oder aber, weil die Hemmstoffe selbst sich mit diesen spezifischen Zellbestandteilen verbinden. BAWDEN stellt weiter fest, daß wohl keine große strukturelle Spezifität der Hemmstoffe vorliegen kann, da eine sehr große Zahl von Substanzen auf die gleichen Viren hemmend wirken kann und außerdem Hemmstoffe gefunden wurden, die gegen alle getesteten Viren wirksam waren, wenn auch gelegentlich die Wirkung eines Hemmstoffes ganz spezifisch war und sich nur auf ein bestimmtes Virus beschränkte, ohne gegen andere geprüfte Viren zu wirken.

Auf Grund seiner Untersuchungen stellt BAWDEN die Forderung, nicht Hemmung gleich Hemmung zu setzen, sondern in jedem Falle zu prüfen, ob die Hemmung reversibel oder irreversibel ist, worüber im Kapitel über den Inaktivierungsbegriff bereits einiges gesagt wurde. Allerdings ist die Konzentration des Hemmstoffes für die Wirkung entscheidend, wie besonders BEST (1940) betont, indem er feststellt, daß für jede Hemmsubstanz eine Schwellenkonzentration existiert, unterhalb derer kein irreversibler Wechsel erzeugt wird.

Literaturverzeichnis

*) Die Arbeiten konnten nur im Referat eingesehen werden.

1. *) Anonym, 1940: Plant virus diseases and their control. Transactions of the conference on plant virus diseases, Moscow, 4.—7. II. Acad. Sci. USSR, 340 S. Moscow-Leningrad.

2. BAWDEN, F. C., 1950: Plant viruses and virus diseases. Waltham, Mass., USA.

3. *) — —, 1953: Plant Pathology Department. — Rep. Rothamsted Exp. Stat. for 1952. 79—92.

4. *) — — and PIRIE, N. W., 1940: a) The inactivation of some plant viruses by urea. Biochem. J. 34, 1258—1277.

5. *) — — and — —, 1940: b) The effect of alkali and some simple organic substances on three plant viruses. Biochem. J. 34, 1278—1292.

6. *) — — and — —, 1950: Some effects of freezing in the leaf, and of citrate in vitro on the infectivity of a tobacco necrosis virus. J. Gen. Microbiol. 4, 482—492.

7. *) Best, R. J., 1936: The relationship between the activity of tobacco mosaic virus suspensions and hydrion concentration over the pH range 5 to 10. Aust. J. exp. Biol. med. Sci. **16**, 323—328.

8. *) — —, 1940: The action of electrolytes on solutions of tobacco mosaic virus nucleoprotein (*Marmor tabaci* var. vulgare Holmes). — Aust. J. exp. Biol. med. Sci. **18**, 307—312.

9. *) — — and Gallus, H. P. C., 1953: Preservation of the virus of tomato spotted wilt virus in dried plant material. Nature **172**, 315.

10. *) — — and Samuel, G., 1936: a) The reaction of the viruses of tomato spotted wilt and tobacco mosaic to the pH value of media containing them. Ann. appl. Biol. **23**, 509—537.

11. *) — — and — —, 1936: b) The effect of various chemical treatments on the activity of the viruses of tomato spotted wilt and tobacco mosaic. Ann. appl. Biol. **23**, 759—780.

12. Black, L. M., 1939: Inhibition of virus activity by insect juices. Phytopathology **29**, 322—336.

13. Bortels, H. und Köhler, E., 1954: VI. Internationaler Kongreß für Mikrobiologie in Rom, 6. bis 12. September 1953. Nachr.-Bl. Dtsch. Pflanzenschutzdienstes (Braunschweig) **6**, 12—13.

14. *) Cain, J. C. and Parker, K. G., 1951: A preliminary report on the response of virus-infected Montmorency cherry trees to nitrogen fertilizer. Phytopathology **41**, 661—664.

15. Caldwell, J., 1936: Factors affecting the formation of local lesions by tobacco mosaic virus. Proc. Royal Soc. London **69**, 493—506.

16. *) Chantrill, B. H., Coulthard, C. E., Dickinson, L., Inkly, G. W., Morris, W. and Pyle, A. H., 1952: The action of plant extracts on a bacteriophage of *Pseudomonas pyocyanea* and on Influenza A virus. J. Gen. Microbiol. **6**, 74—84.

17. *) Fraser, B. and Johnson, F. H., 1949: The influence of buffer composition, pH and aggregation on the thermal denaturation of tobacco mosaic virus. Arch. Biochem. **24**, 338—349.

18. Frei, W., 1938: Neuere Ergebnisse der physikalisch-chemischen Erforschung filtrabler Vira. Z. Infektionskrankh., parasit. Krankh. u. Hygiene d. Haustiere **53**, 253—278.

19. Friedrich-Freksa, H., 1948: Strukturforschung am Tabakmosaikvirus. Vortrag Januar 1947. Ref. Angew. Chemie (A) **60**, 22—23.

20. Fulton, R. W., 1941: The behavior of certain viruses in plant roots. Phytopathology **31**, 575—598.

21. — —, 1943: The sensivity of plant viruses to certain inactivators. Phytopathology **33**, 674—682.

22. — —, 1949: Virusconcentration in plant acquiring tolerance to tobacco streak. Phytopathology **39**, 231—243.

23. *) — —, 1952: Effect of heat treatment on the type 2 virus present in the Robinson strawberry. Plant Dis. Rept. **36**, 466—467.

24. Goldin, M. I., 1938: I. Tobacco-mosaic virus as influenced by microorganisms. II. Adsorption of tobacco-mosaic by microorganisms. C. R. Acad. Sci. de l' URSS = Doklady **20**, 735—739 und 739—740.

25. Grant, T., 1934: The host range and behavior of the ordinary tobacco mosaic virus. Phytopathology **24**, 311—336.

26. Gupta, B. M. and Price, W. C., 1950: Production of plant virus inhibitors by fungi. Phytopathology **40**, 642—652.

27. — — and — —, 1952: Mechanism of inhibition of plant virus infection by fungal growth products. Phytopathology **42**, 45—51.

28. Herrell, W. E. und Schulze, E., 1949: Penicillin und andere Antibiotica. S. Hirzel Verlag, Stuttgart, 485 S.

29. *) HIRTH, L., 1951: Contribution à l'étude de l'inhibition du virus de la mosaique du tabac par diverses substances tanniques. Mode d'action de ces dernières. Ann. Inst. Pasteur **80**, 458—469.
30. HOLMES, F. O., 1946: A comparison of the experimental host ranges of tobacco-etch and tobacco-mosaic viruses. Phytopathology **36**, 643—659.
31. *) JOHNSON, E. M. and VALLEAU, W. D., 1940: Infectivity of tobacco mosaic virus in liquids over 14 years old. Phytopathology **30**, 697—698.
32. JOHNSON, J., 1941: Chemical inactivation and the reactivation of a plant virus. Phytopathology **31**, 679—701.
33. — — and HOGGAN, I. A., 1937: The inactivation of the ordinary tobacco-mosaic virus by microorganisms. Phytopathology **27**, 1014—1027.
34. — — and OGDEN, W. B., 1929: The overwintering of the tobacco mosaic virus. Wisconsin Agricult. Exp. Stat. Res. Bull. **95**, 24 S.
35. *) JOLY, M., 1952: Modifications des particules de virus de la mosaique du tabac en solution. Etude par la birefringence d'écoulement. I. Action de divers agents physiques. Biochim. et Biophysica Acta **8**, 134—144.
36. *) KASSANIS, B., 1949: Potato tubers freed from leafroll virus by heat. Nature **164**, 881.
37. KAUSCHE, G. A., 1938: Über Aktivierungseffekte mit Strahlen am Tabakmosaikvirus. Naturwiss. **26**, 741.
38. — —, 1949: Über eine das Virusprotein inaktivierende Substanz im Samen von *Nic. tab.* Samsun. Biol. Zbl. **60**, 423.
39. — — und STUBBE, H., 1938: Über Aktivierungseffekte mit Röntgenstrahlen am Tabakmosaikvirus. Naturwiss. **26**, 740—741.
40. KLINKOWSKI, M., 1949: Die Viruskrankheiten der Pflanze, Symptomatologie, Krankheitsübertragung und chemische Eigenschaften und Maßnahmen zu ihrer Bekämpfung. Urania **12**, 415—426.
41. — —, 1953: Entwicklung und Problematik der pflanzlichen Virusforschung. S.-B. Dtsch. Akad. Landw.-wiss. Berlin **2**, H. 3, 40 S.
42. — —, 1954: Die Inaktivierung des Tabakmosaikvirus durch pilzliche Stoffwechselprodukte. Mitt. Biol. Bundesanst. Land- u. Forstwirtsch. Berlin-Dahlem H. **80**, 162—168.
43. KLEBAHN, H., 1936: Versuche über das Wesen der Mosaikkrankheit des Tabaks und über einige andere Viruskrankheiten. Phytopath. Z. **9**, 358—369.
44. KÖHLER, E., 1934: Viruskrankheiten, Band **1**, Teil 2, 6. Aufl. Handb. Pflanzenkrankht., Verlag Paul Parey, Berlin.
45. — —, 1947: Studien über den Infektionsverlauf bei Verimpfung des Tabakmosaik- und des Paratabakmosaikvirus auf *Nic. glutinosa* und *Nic. tabacum (var. White Burley)*. Arch. Virusforschg. **3**, 303—306.
46. — —, 1954: Pflanzenpathogene Viren. Fortschr. d. Bot. **15**, 476—512.
47. — — und KLINKOWSKI, M., 1954: Viruskrankheiten, Band **2**, 1. Lieferung, 6. Aufl. Handb. Pflanzenkrankht., Verlag Paul Parey, Berlin u. Hamburg.
48. — — und PANJAN, M., 1943: Das Paratabakmosaikvirus der Tabakblätter. Ber. Dtsch. Bot. Ges. **61**, 175—180.
49. KÖHLER, H., 1953: Antibiotika und ihre Bedeutung in der Pflanzenpathologie. Sammelreferat, Teil II—IV. Nachr.-Bl. Dtsch. Pflanzenschutzdienst (Berlin), N. F. **7**, 12—18, 72—78, 108—113.
50. *) KUNKEL, L. O., 1936: Heat treatment for the cure of yellows and other virus diseases of peach. Phytopathology **26**, 809—830.
51. KUNTZ, J. E. and WALKER, J. C., 1946: Virus inhibitors in spinach extract. Phytopathology **36**, 404.
52. — — and — —, 1947: Virusinhibitions by extracts of spinach. Phytopathology **37**, 561—579.

53. *) Lea, D. E. and Smith, K. M., 1940: The inactivation by radiation. Parasitology **32**, 405—416.
54. Leben, C. and Fulton, R. W., 1951: The inhibition of virus symptoms expression by sodium azide, potassium cyanide, and two antibiotics. Phytopathology **41**, 23.
55. *) Lucardie, M., 1951: Behinderung der Vermehrung des Tabakmosaikvirus durch einen Extrakt aus Kernen einiger Palmenarten. T. Plantenziekten **57**, 172—173.
56. Manil, P., 1949: Inhibition de virus phytopathogènes par des extraits de plantes. C. R. Soc. Biol., Paris, **143**, 101—105.
57. — —, 1949: Observations sur les conditions de l' inhibition de virus par des extraits végétaux. C. R. Soc. Biol., Paris, **143**, 105—108.
58. Marcks Franke, H., 1938: Die Neutralisation des klassischen Virus durch Preßsäfte lokalresistenter Pflanzen (Vorl. Mitt.). Planta **27**, 399—404.
59. Marshak, A. and Takahashi, W. N., 1941: The effect of pH on the inactivation of tobacco-mosaic virus by X-rays. In: Report of the 1941 annual meeting of the Pacific Division of the American Phytopathological Society. Phytopathology **31**, 859—865.
60. *) Matthews, R. E. F., 1951: Effect of some substituted purines on the development of plant virus infections. Nature **167**, 892—893
61. Mulvania, M., 1926: Studies on the nature of the virus of tobacco mosaic. Phytopathology **16**, 853—871.
61a. Newton, N. und Kissel, J. W., 1953: Biophysical studies of the ultrasonic fragmentation of tobacco mosaic virus. Arch. of Biochem. a. Biophysics **47**, 424—437.
62. Nichols, C. W., 1952: The retarding of certain plant hormones on tobacco mosaic symptoms. Phytopathology **42**, 579—580.
63. Pfankuch, E. und Kausche, G. A., 1938: Über Darstellung, Eigenschaften und quantitative Bestimmung von Tabakmosaik-Virus und Kartoffel-X-Virus und ihre physikochemische Differenzierung. Biochem. Z. **298**, 334—345.
64. *) Posnette, A. F., 1953: Heat inactivation of strawberry viruses. Nature **171**, 312.
65. Purdy, H. A., 1929: Immunologic reactions with tobacco mosaic virus. J. Exp. Med. **49**, 919—935.
66. *) Ryshkow, W. L., 1950: Einige Gesetzmäßigkeiten der Wirkung von Virus- und Phageninhibitoren. (Russ.) Dokl. Akad. Nauk. SSSR **73**, 1049—1052.
67. *) Salzmann, R., 1948: Aktuelle Fragen im schweizerischen Kartoffelbau. Schweiz. Landw. Mh., H. **4**, 28 S.
68. *) Sardiña, I. R. and Cordon, F. M., 1950: Acción de algunos fármacos sobre las virosis de las plantas. Bol. Pat. Veg. Entom. Agr. **17**, 1—14.
69. Schneider, I. R., 1954: The effect of purines, purine analogs and related compounds on the multiplication of tobacco mosaic virus. Phytopathology **44**, 243—247.
70. Schramm, G., 1947: Über die Spaltung des Tabakmosaikvirus und die Wiedervereinigung der Spaltstücke zu höhermolekularen Proteinen. I. Die Spaltungsreaktion. II. Versuche zur Wiedervereinigung der Spaltstücke. Z. Naturforsch. **2b**, 112—121 und 249—257.
71. — —, 1954: Biochemie der Viren, Springer Verlag Berlin.
72. *) — — und Wiedemann, M., 1951: Größenverteilung des Tabakmosaikvirus in der Ultrazentrifuge und im Elektronenmikroskop. Z. Naturforsch. **6 b**, 379—383.
73. Sigurgeirsson, R. und Stanley, W. M., 1947: Electron microscope studies on tobacco-mosaic virus. Phytopathology **37**, 26—38.
74. Sill, W. R. and Walker, J. C., 1952: A virus inhibitor in cucumber in relation to mosaic resistance. Phytopathology **42**, 349—352.
75. Stanley, W. M., 1935: Chemical studies on the virus of tobacco mosaic. III. Rates of inactivation at different hydrogen-ionconcentrations. IV. Some effects of different chemical agents on infectivity. Phytopathology **25**, 475—492 u. 899—921.
76. *) Szmirmai, J., 1948: Die Verbreitung von Viruskrankheiten durch die Saat. Mitt. Fakult. Garten- u. Weinbau Univers. Agrarwiss. Budapest **12**, 165—181.

77. Takahashi, W. N., 1941: A virus inactivator from yeast. In: Report of the 1941 Ann. meeting Pacific Division Amer. Phytopath. Soc. Phytopathology **31**, 859—865.
78. *) — —, 1942: A virus inactivator from yeast. Sci. N. S. **95**, 586—587.
79. — —, 1949: The effect of pH on the linear aggregation of tobacco-mosaic virus. Amer. J. Bot. **36**, 642—645.
79a. Thirumalachar, M. J., 1954: Inactivation of potato leaf roll by high temperature storage of seed tubers in Indian plains. Phytopath. Z. **22**, 429—436.
80. Thornberry, H. H., 1935: a) Effect of phosphate buffers on infectivity of tobacco-mosaic virus. Phytopathology **25**, 619—625.
81. — —, 1935: b) Effect of tannic acid on the infectivity of tobacco-mosaic virus. Phytopathology **25**, 931—937.
82. *) Thung, T. H., 1952: Warnemingen omtrent de dwergziekte bij framboos en wilde braam II. T. Plantenziekt. **58**, 255—259.
83. *) — — and van der Want, J. P. H., 1951: Viren en looistoffen. T. Plantenziekt. **57**, 173—174.
84. Utech, N. M. and Johnson, J., 1950: The inactivation of plant viruses by substances obtained from bacteria and fungi. Phytopathology **40**, 247—265.
85. Vogel, H., 1951: Die Antibiotica. Verlag Hans Carl, Nürnberg, 528 S.
86. *) Van der Want, J. P. H., 1951: Onderzoekingen over anjermozaiek II. T. Plantenziekt. **57**, 72—74.
87. *) Weintraub, M. and Gilpatrick, J. B., 1952: An inhibitor in a new host of tobacco ring spot virus. Canad. J. Bot. **30**, 549—557.
88. — —, — — and Willison, R. S., 1952: The effect of certain water-soluble compounds on virus infection. Phytopathology **42**, 417—419.
89. Went, J. G., 1937: The influence of various chemicals on the inactivation of tobacco virus 1. Phytopath. Z. **10**, 481—489.
90. *) Yamafuji, K. und Goya, T., 1950: Verhütung der Viruserkrankung durch Eisenverbindungen. J. fac. agric. Kyushu Univ. **9**, 339.
91. Yarwood, C. E., 1952: a) The phosphate effect in plant virus inoculations. Phytopathology **42**, 137—143.
92. — —, 1952: b) Deleterious action of water in plant virus inoculations. Nature **169**, 502.
93. — —, 1954: Zinc increases susceptibility of bean leaves to tobacco mosaic virus. Phytopathology **44**, 230—233.
94. *) Yoshida, T. and Suda, S., 1949: An inactivator in the juice of *Phytolacca americana* for the tobacco virus 1. Science (Japan) **17**, 58.

Sämtliche in der Arbeit genannten, aber im Literaturverzeichnis nicht aufgeführten Autoren wurden zitiert nach Bawden (1950), wo die entsprechenden Literaturangaben zu finden sind.

In Fragen der Nomenklatur und Systematik wurden herangezogen:

Bergeys manual of determinative bacteriology, 6. Aufl., 1948. The Williams & Wilkins Company, Baltimore.
Gäumann, E., 1949: Die Pilze, Verl. Birkhäuser, Basel.
Heinze, K., 1951: Die Überträger pflanzlicher Viruskrankheiten, Mitt. Biol. Zentralanst. Land- u. Forstwirtsch. Berlin-Dahlem, H. **71**.
Köhler, E. und Klinkowski, M., 1954: Viruskrankheiten, Bd. **2**, 6. Aufl. Handb. Pflanzenkrankheiten, Verl. Paul Parey, Berlin u. Hamburg.
Schmeil-Fitschen, 1952: Flora von Deutschland, 62. Aufl., Verl. Quelle u. Meyer, Heidelberg.
Thomé-Migula, 1903—1934: Flora von Deutschland, Österreich und der Schweiz, Bd. 1—4 und Bd. 9—11, Hugo-Bermühler-Verl., Berlin-Lichterfelde.
Wehrhahn, H. R., 1952: Taschenbuch der botanischen Pflanzennamen, 5. Aufl., Heinrich-Killinger-Verlagsges., Nordhausen.

Aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft,
Institut für Mykologie, Berlin-Dahlem

Untersuchungen über die *Botrytis*-Krankheit der Gladiolen

(Erreger: *Botrytis gladiolorum* Timmermans)

Von

Chr. Bruhn

Mit 9 Abbildungen

Inhalt: A. Einleitung. — B. Geschichte und Verbreitung der Krankheit. — C. Krankheitsbild und Krankheitsverlauf. — D. Der Erreger: 1. Morphologie, 2. Physiologie, 3. Systematische Stellung. — E. Die Bekämpfung. — F. Zusammenfassung. — Literaturverzeichnis.

A. Einleitung

Im Verlauf von Untersuchungen über die *Fusarium*-Krankheit der Gladiolen ist 1952 festgestellt worden, daß auch eine Naßfäule der Gladiolenknollen in vielen Berliner Gartenbaubetrieben seit einigen Jahren schwere Schäden verursacht hat. Die gleiche Fäule wurde später an zahlreichen Knollenproben beobachtet, die zwischen 1952 und 1954 von Gärtnereien aus allen Teilen Deutschlands zur Begutachtung eingesandt wurden. Keine der Beschreibungen, die in den deutschsprachigen Handbüchern für die einzelnen Gladiolenkrankheiten gegeben werden, traf auf diese Fäule zu. Deshalb erschien es notwendig, die Krankheitsursachen näher zu untersuchen. Die Untersuchungen haben ergeben, daß die beobachteten Schäden durch eine *Botrytis*-Art hervorgerufen worden sind, und daß die gleiche *Botrytis*-Art auch Blätter und Blüten der Gladiolen befallen kann.

Soweit sich übersehen läßt, steht in England und Holland die Knollenfäule der Gladiolen im Vordergrund, während in weiten Teilen der USA vor allem Blätter und Blüten der Gladiolen befallen werden; dementsprechend wechseln die Bezeichnungen für die Krankheit in den einzelnen Gebieten. Da in Deutschland alle Phasen der Krankheit zu beobachten sind, erscheint es zweckmäßig, zusammenfassend von einer „*Botrytis*-Krankheit" zu sprechen. Die *Botrytis*-Knollenfäule wäre in Anlehnung an die ausländische Literatur als Naßfäule zu bezeichnen. Da bei Gladiolen aber außerdem eine Trockenfäule durch *Sclerotinia gladioli*, eine Braunfäule durch *Fusarium oxysporum* und eine Hartfäule durch *Septoria gladioli* vorkommen, erscheint es angebracht, jeweils den Namen des Erregers zur Kennzeichnung der betreffenden Krankheiten mit heranzuziehen.

B. Geschichte und Verbreitung der Krankheit

Die *Botrytis*-Krankheit der Gladiole läßt sich mit Sicherheit nur bis zum Ende der zwanziger Jahre zurückverfolgen. Allerdings haben schon SORAUER (1898) und RITZEMA BOS (1914) *Botrytis*-Arten von kranken Gladiolen isoliert, jedoch glaubten beide Autoren andere Ursachen für die beobachteten Krankheiten annehmen zu müssen. *Botrytis*-befallene Knollen bildet zum ersten Male DRAYTON (1927, 1928) ab. Er spricht 1929 davon, daß eine noch nicht beschriebene *Botrytis*-Art in Holland Knollen und Blattbasen der Gladiolen befällt und bereits wirtschaftliche Bedeutung erlangt hat. HICKS beschreibt 1931 die Knollenfäule zum ersten Male und gibt weitere Abbildungen. KLEBAHN (1930) isoliert von Gladiolenblättern in Deutschland eine *Botrytis*-Art, die sich nach seinen Angaben von *B. cinerea* wesentlich unterscheidet; er prüft die Isolierung jedoch nicht auf Pathogenität. 1934 wird auch in Australien von NOBLE und Mitarbeitern ein *Botrytis*-Befall an oberirdischen Teilen der Gladiolen beschrieben. MOORE hat die Krankheit schon seit 1927 an Knollen in England gefunden und veröffentlicht 1939 seine Beobachtungen. In den nächsten Jahren folgen die ersten ausführlichen Arbeiten: STOFMEEL (1941) und TIMMERMANS (1941) haben im Laufe mehrerer Jahre in Holland Symptome, Entwicklungsgang und Bekämpfung der Krankheit weitgehend erforscht; etwa um die gleiche Zeit erreicht diese in USA zum ersten Male epidemische Ausmaße (DODGE & LASKARIS 1941, DIMOCK 1940). Doch noch 1940 bezweifelt TISDALE, daß *Botrytis* tatsächlich für die beobachteten Schäden verantwortlich ist. Heute scheint die *Botrytis*-Krankheit in vielen Teilen der Welt eine ernste Gefahr zu sein; entsprechende Berichte liegen vor aus: Österreich (SCHMIDT 1949), Dänemark (NEERGARD 1950), England (HAWKER 1946), USA (MC LEAN 1948, MAGIE 1953), Argentinien (SARAVI CISNEROS 1946), Australien (WADE 1945, 1946) und Tasmanien (WHITE 1945). In Deutschland ist die Krankheit, soweit bekannt, noch nicht beschrieben worden. Eine genaue Schilderung ihrer Geschichte findet sich bei TIMMERMANS (1941) und SCHMIDT (1949).

Es kann kein Zweifel bestehen, daß die *Botrytis*-Krankheit heute in Deutschland für den Gladiolenanbau ebenso gefährlich ist wie die *Fusarium*-Krankheit. Nach vorsichtigen Schätzungen muß man damit rechnen, daß hier jährlich etwa 30 % aller Gladiolen von *Botrytis* vernichtet werden.

C. Krankheitsbild und Krankheitsverlauf

Mit Ausnahme der Wurzeln können alle Teile der Gladiolenpflanze von *Botrytis* befallen werden. Die Symptome sind äußerst mannigfaltig. Man hat infolgedessen zunächst geglaubt, sie auf verschiedene Erreger zurückführen zu müssen (MOORE 1939). Reich bebilderte Darstellungen der Krankheitssymptome finden sich bei MOORE (1949), STOFMEEL (1941), TIMMERMANS (1941) und SCHMIDT (1949). BALD (1953) hat besonders das Basalfäule-Stadium beschrieben. Anscheinend haben nicht alle Autoren die verschiedenen Stadien

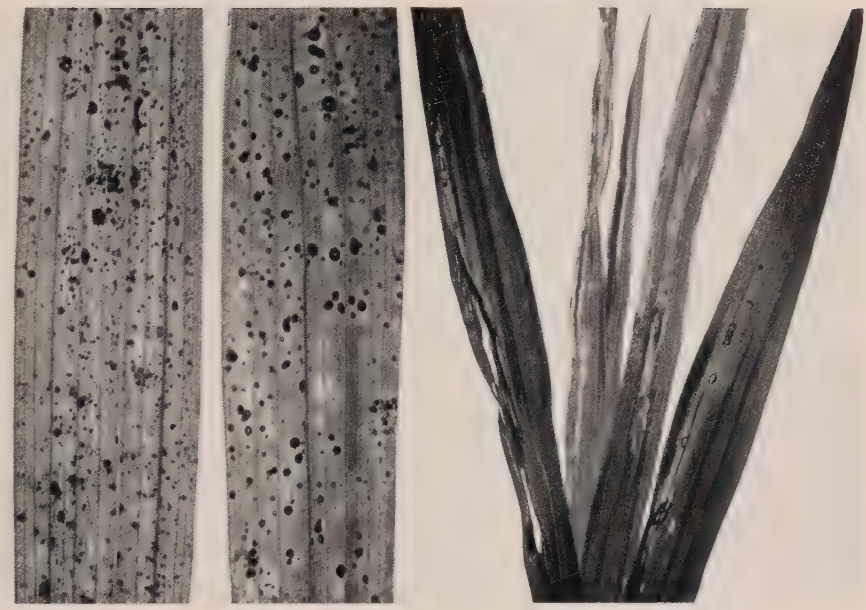
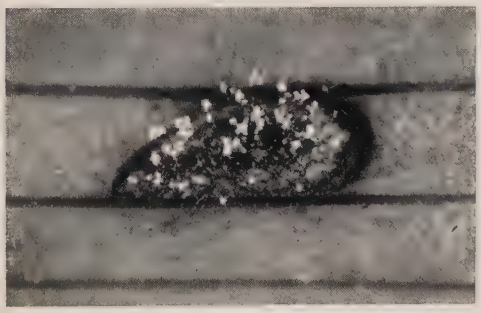


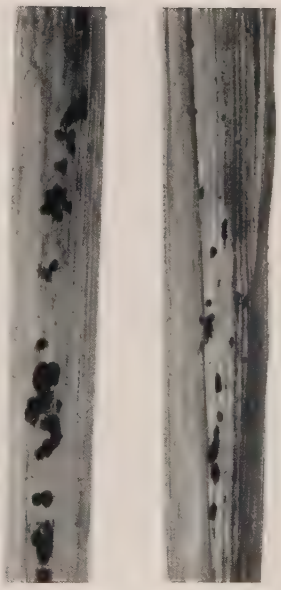
Abb. 1 (oben links). *Botrytis*-Flecke an Gladiolenblättern, Anfangssymptome

Abb. 2 (oben rechts). *Botrytis*-Flecke an Gladiolenblättern, fortgeschrittenes Stadium

Abb. 3 (unten links). *Botrytis gladiolorum*, Fruktifikation auf Blattfleck. 15 : 1

Abb. 4 (unten rechts). Sklerotien von *Botrytis gladiolorum* an abgestorbenem Gladiolenstengel. Äußere Blätter entfernt. Nat. Größe





der Krankheit mit gleicher Häufigkeit beobachten können; jedenfalls wird deren Bedeutung verschieden beurteilt. Aus diesem Grunde soll hier noch einmal ein zusammengefaßter Überblick gegeben werden, der auf eigenen Beobachtungen beruht.

An den Blättern erscheinen zuerst kaum sichtbare, scharf umgrenzte, rotbraune Punkte, die von einem chlorotischen Hof umgeben sind und sich später vergrößern, wobei das Zentrum blaß gelblich-braun und dürr wird (Abb. 1). Mehrere solcher Flecke fließen ineinander, das dürre Gewebe reißt auf, und schließlich sieht das ganze Blatt wie zerschlissen aus (Abb. 2). Besonders heftig werden meist die Stellen befallen, an denen die Blätter übereinandergreifen; dadurch kann oft ein Blatt abgeschnürt werden und umknicken. Während auf kleinen Flecken (Abb. 3) Fruktifikation selten zu beobachten ist, bildet sich bei hoher Luftfeuchtigkeit auf größeren erkrankten Bezirken ein dichter, weiß-bläulich schimmernder Konidienrasen. Später geht der Pilz auch auf den Stengel über. Er ruft dort braune Flecken von unterschiedlicher Form und Größe hervor und bildet häufig schwarze, rundliche oder längliche, einfache oder zusammengeballte Sklerotien von 0,5 bis 10 mm Größe aus (Abb. 4).

Es kommt auch vor, daß die Blätter ohne Fleckenbildung plötzlich im ganzen vergilben und absterben. In diesem Falle kann die Pflanzknolle oder die Blattbasis von *Botrytis* zerstört sein. Die Basalfäule kann von der Knolle oder von Blattflecken oberhalb der Erde ausgehen. Die äußeren Blätter sind in der Nähe der Erdoberfläche fleckig, auch zerschlissen und oft mit Sklerotien bedeckt. Bei stärkerem Befall knickt die ganze Pflanze um.

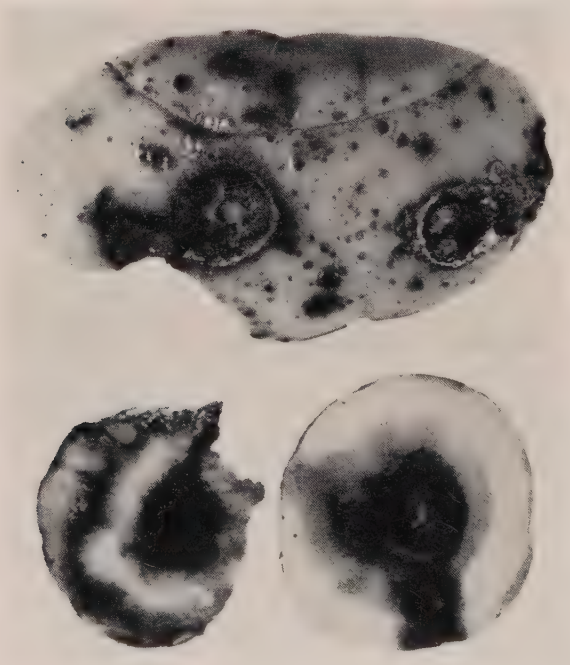


Abb. 5. Künstliche *Botrytis*-Infektion an Gladiolenknollen. Oben: Beginnende Infektion an der Knollenoberfläche; 4,5:1. Unten links: In der Feuchtkammer ist Luftmyzel aus dem Knollenkern hervorgebrochen. Rechts: Von der Infektionsstelle an der Knollenoberfläche aus ist der Pilz rasch zum Knollenkern hingewachsen und hat diesen zerstört, ohne zunächst das Speichergewebe anzugreifen. Nat. Größe

Besonders unangenehm wirkt sich der *Botrytis*-Befall auf die Blüten aus. Gelangen Sporen auf die Blütenblätter, so entstehen wässerige Flecke, die sich während des Transportes rasch vergrößern und die Blüten wertlos machen. Ist das Blattwerk einer blühenden Pflanze stärker befallen, so fault der Stengel ab, oder die Einzelblüten öffnen sich nicht, wodurch ein Bild wie bei *Thrips*-Befall entsteht. Bei hoher Luftfeuchtigkeit sind die Blüten oft dicht von Myzel überwachsen.

Sehr mannigfaltig ist das Schadbild an den Knollen. Erfolgt die Infektion von außen, so entstehen an der Knollenoberfläche zunächst kreisrunde, rotbraune Fleckchen, die von schwachen *Fusarium-* oder *Sclerotinia*-Infektionen kaum zu unterscheiden sind (Abb. 5 oben). Größere Flecken sind nur am Rande rotbraun; das Zentrum ist blaßgelb oder schwarz, in der Art eines Trommelfells straff gespannt und etwas eingesunken. Bei genauer Beobachtung fallen grünschwarze, hautartige Sklerotien auf, die den Flecken dicht angepreßt sind und leicht für Reste der Epidermis gehalten werden können. Charakteristisch ist die Eigenart des Pilzes, rasch in Richtung auf den Kern der Knolle zu wachsen, das periphere Gewebe aber zunächst nicht anzugreifen (Abb. 5 unten). Er kann an jeder beliebigen Stelle in die Knolle eindringen, bevorzugt aber die Knospen und die Ansatzstellen der Hüllblätter als Eintrittspforten. Dadurch entstehen oft strahlenartige Verbindungskanäle, die von allen Seiten zum Kern hinführen (bei den sogenannten „stralers"). Wächst der Erreger vom Stengel her ein, so entsteht der Kernfäule-Typ der Krankheit („core-rot", „holle harten"). Meist ist der Kern nur weichfaul, mitunter wird er aber abgekorkt und fällt dann heraus

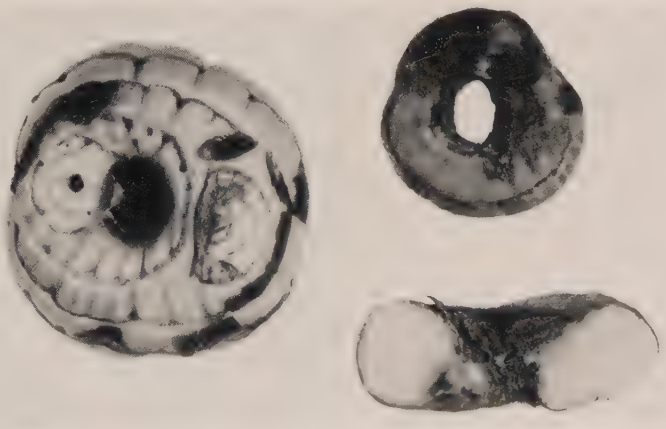


Abb. 6. Kernfäule-Typ der *Botrytis*-Krankheit

(Abb. 6). Oft wird nur der Knollenboden von einer verhältnismäßig trockenen Fäule befallen. Da hier die Wurzelansätze liegen, treibt die Knolle im Frühjahr schlecht oder überhaupt nicht aus.

Unter geeigneten Bedingungen kann jeder der angeführten Krankheitstypen in eine allgemeine Fäule des Knollengewebes übergehen. Dabei erscheinen zunächst unter der noch intakten Oberschicht dunkle Schattierungen, so daß die betreffende Stelle wie blutunterlaufen aussieht. Das Gewebe lockert sich auf, wird von Hohlräumen durchsetzt und färbt sich braun. Häufig findet man in den Hohlräumen und unter den Knospenhüllen das zarte, weiße Pilzmyzel. Oft entstehen die typischen Sklerotien zwischen den Hüllblättern oder an der Knollenoberfläche (Abb. 7). Je nach der Feuchtig-

keit geht die Knolle schließlich in Naßfäule über oder wird trocken und steinhart. Die trockenen Mumien sind lockerer und leichter als die durch *Fusarium*-Befall mumifizierten Knollen; sie schwimmen auf Wasser und lassen sich so von gesunden Knollen trennen.

An basalfaulen Pflanzen oder an Putzabfällen entstehen unter geeigneten Bedingungen im Frühjahr massenhaft Konidien, die in kurzer Zeit Blattflecken erzeugen. In nassen Zeiten des Sommers breitet sich die Krankheit von Pflanze zu Pflanze aus, um im Herbst dann die Knollen anzugreifen.

In Deutschland konnten alle genannten Stadien der Krankheit beobachtet werden. Wenn andere Autoren (z. B. HAWKER 1946, SCHMIDT 1949) Schäden an Blättern oder Blüten wenig oder gar nicht feststellen konnten, so lag dies sicherlich nur an den besonderen Witterungsumständen der betreffenden Jahre. In Berlin beispielsweise war im Winter 1952/53 die Knollenfäule sehr heftig aufgetreten; infolgedessen fanden sich im Frühjahr in allen Beständen viele Pflanzen mit Basalfäule. Der relativ trockene Sommer verhinderte jedoch die Ausbreitung, so daß erst im Spätherbst vereinzelt Blattflecke beobachtet werden konnten und die Knollenfäule im folgenden Winter eine untergeordnete Rolle spielte. Obwohl also 1954 kaum kranke Knollen in den Boden kamen, brachte der kühle und regnerische Sommer eine katastrophale *Botrytis*-Epidemie an Blättern und Blüten, die zu zahlreichen Anfragen aus der Praxis in Berlin und Westdeutschland Anlaß gab. Somit hat der deutsche Gartenbau jederzeit mit der *Botrytis*-Krankheit zu rechnen, genau so wie mit den anderen Gladiolenkrankheiten, die schon vor langer Zeit eingeschleppt worden sind.

Abb. 7. Sklerotien von *Botrytis gladiolorum* auf mumifizierter Gladiolenknolle. 4,5:1

D. Der Erreger

1. Morphologie

Aus kranken Gladiolenknollen, die im Herbst 1952 in Berliner Betrieben aufgefunden wurden, ließ sich leicht eine *Botrytis*-Art isolieren. Auf Petri-

schalen mit 2%igem Bierwürzeagar wurden Gewebestückchen ausgelegt. Aus den entstehenden Rohkulturen wurden mit Hilfe des Kochschen Plattenguß-verfahrens Einsporkulturen gewonnen und auf verschiedenen Agarnährböden sowie auf Reisbrei, Gerstenähren und Luzernestengeln in Reagensröhrchen weiterkultiviert. Zu vergleichenden Untersuchungen wurden folgende Stämme von *Botrytis cinerea* herangezogen:

7180: Isoliert von Johannisbeere (Fruchtfäule),
7330: isoliert von faulender Zuckerrübe,
7378: isoliert von faulendem Cyclamenblatt.

Nachdem sich herausgestellt hatte, daß sich die Stämme auf allen Nährböden fast gleich verhielten, wurden sie nur noch auf Gerstenähren und Luzernestengeln kultiviert. Später wurden auch Kulturen aus befallenen Blüten, Blättern und Stengeln sowie aus Konidien und Sklerotien angelegt. Alle diese Stämme sahen in Kultur gleich aus und unterschieden sich deutlich von den *cinerea*-Typen; sie zeigten folgende Eigenarten:

Das Luftmyzel war sehr reichlich vorhanden, locker und schneeweiß, es färbte sich erst später hellgrau. Im Dunkeln entstanden keine Sklerotien, sondern nur flache, graugrüne Haftscheibchen überall dort, wo Myzel das Glas berührte. Bei ausreichender Beleuchtung wurden viele runde, einzeln liegende oder zusammengeballte Sklerotien gebildet (wie in Abb. 7). Sie waren bei der Entstehung schmutzigweiß, später olivgrün und schließlich schwarz gefärbt.

Die Fruktifikation bereitete zunächst große Schwierigkeiten; auch bei hellem Stand im Laboratorium bildeten sich in Kultur nur ganz vereinzelte Sporenträger. Direktes Sonnenlicht (von Timmermans 1941 empfohlen) ergab bessere Resultate, doch trugen die gebildeten Sporenträger relativ wenige Sporen und waren von Luftmyzel umgeben. Am besten wirkte eine Kombination von kräftiger Beleuchtung und niedriger Temperatur (10 bis 12° C). Im Kalthaus oder Freiland aufgestellte Kulturen bedeckten sich in 48 Stunden mit einem dichten Konidienrasen. Auf die Behandlung sprachen nur frisch beimpfte, wachsende Kulturen an; bei älteren, neu befeuchteten Kulturen entstanden nur auf den Sklerotien dichte Konidienbüschel. Die Träger waren hell graubraun gefärbt.

Die *cinerea*-Stämme bildeten demgegenüber auch in der Dunkelheit Konidien und Sklerotien. Das Myzel war schmutziggrau, später dunkelgrau bis olivgrün gefärbt; die Konidienträger waren ebenfalls dunkelgrau.

Von verschiedenen Stämmen der Gladiolen-*Botrytis* und den genannten *cinerea*-Stämmen wurden je 100 Konidien in Präparaten mit Leitungswasser gemessen. Stamm A war aus *Acidanthera*-Knollen isoliert worden, die Stämme 2, 10 und 12 aus Gladiolen-Knollen. Alle Konidien stammten von 14 Tage alten Kulturen auf Gerstenähre oder Luzernestengel, nur bei Stamm 11 wurden sie vom ursprünglichen natürlichen Substrat (Blattfleck an Gladiole) gewonnen. Es ergaben sich folgende Werte (in Mikron):

Stamm	Extreme	Häufige	Mittelwert
7180	9 – 16 × 7 – 12	10 – 14 × 7 – 9	12,5 × 8,2
7330	7 – 15 × 5 – 13	9 – 12 × 8 – 11	10,8 × 9,3
7378	7 – 16 × 6 – 11	8 – 10 × 7 – 9	9,5 × 7,8
A	9 – 17 × 7 – 12	12 – 15 × 9 – 11	13,2 × 9,9
2	8 – 17 × 7 – 12	11 – 15 × 9 – 11	13,2 × 9,7
10	11 – 16 × 8 – 13	11 – 14 × 9 – 11	12,6 × 10,4
11	10 – 21 × 7 – 12	11 – 17 × 8 – 11	14,6 × 9,7
12	14 – 20 × 9 – 14	15 – 17 × 10 – 13	16,2 × 11,6

Zum Vergleich seien die Werte angeführt, die von verschiedenen Autoren früher angegeben worden sind:

Autor		Extreme	Mittelwert	Bezeichnung
KLEBAHN	1930	8 – 15 × 3 – 6	10,4 × 4,7	*B. gladioli*
MOORE	1939	12 – 15 × 9 – 12	13 × 10	*B. gladioli* (?)
TIMMERMANS	1941	10 – 22 × 8 – 13	15,0 × 10,0	*B. gladiolorum*
DODGE & LASKARIS	1941	12 – 21 × 8 – 13	15,8 × 10,5	*B. gladioli* (?)
HAWKER	1946	12 – 15 × 9 – 12	—	*B. cinerea*
WADE	1946	13 – 18 × 11 – 12	15 × 12	*B. gladioli*
MCLEAN	1948	20 – 34 × 10 – 16	25 × 11	*B. elliptica*
SCHMIDT	1949	10 – 24 × 8 – 16	15,3 × 11,4	*B. gladiolorum*

Die Werte von KLEBAHN und MCLEAN fallen aus dem Rahmen; mit den Angaben der übrigen Autoren stimmen die hier gewonnenen Zahlen gut überein.

2. Physiologie

Als physiologische Eigenschaften der Gladiolen-*Botrytis* wurden nur das Verhalten bei verschiedenen Temperaturen und die Pathogenität geprüft. Der Einfluß der Temperatur auf das Wachstum des Pilzes in Kultur wurde an zwei Stämmen ermittelt: Auf Petrischalen mit Bierwürzeagar wurden bewachsene Agarscheibchen von einheitlich 5 mm Durchmesser ausgelegt. Von jedem Stamm wurden vier Schalen bei den einzelnen Temperaturen aufgestellt; nach fünf Tagen wurde der Durchmesser der Kulturen bestimmt. Die Mittelwerte der vier Wiederholungen sind in Abb. 8 angegeben; dabei wurde jeweils der Durchmesser des Impfstückes subtrahiert. Das Minimum liegt demnach unter 3 ° C. Das Optimum ist zwischen 15 und 23 ° C nur undeutlich zu erkennen. Oberhalb 31 ° C ist kein Wachstum mehr festzustellen. Kulturen, die sechs Tage bei 35 ° C gestanden hatten, wuchsen später bei niedrigerer Temperatur nicht mehr, während die bei 31 ° gewachsenen sich völlig normal verhielten, sobald die Temperatur herabgesetzt wurde. TIMMERMANS (1941) hat ein Optimum zwischen 20 und 23 ° C ermitteln können. MCCLELLAN & MARSHALL (1951) haben aber ebenfalls nur einen undeutlichen Höchstwert zwischen 18 und 24 ° C gefunden. Wesentlich ist,

daß das Optimum deutlich niedriger liegt als beispielsweise bei *Fusarium oxysporum*. Die Kardinalpunkte von 3 ° und 31 ° C stimmen mit den Angaben von WADE (1946) und TIMMERMANS (1941) genau überein.

Die Pathogenität der isolierten Stämme wurde meist nur an Knollen geprüft, nachdem einmal festgestellt worden war, daß das Laub ebenfalls infiziert werden kann. Wurzelinfektionen gelangen niemals. Der Pilz wuchs auch auf allen schweren, dichten Substraten nur an der Oberfläche und ging offenbar im Boden rasch zugrunde. Das Laub wurde infiziert, indem bewachsene Agarstückchen dort eingezwängt wurden, wo die einzelnen Blätter übereinandergreifen. In einer Gewächshauszelle mit 100 % Luftfeuchtigkeit war nach fünf Tagen ein deutlicher Infektionserfolg nachzuweisen. Knollen wurden folgendermaßen infiziert: In sterile Doppelschalen von mindestens 3 cm Höhe wurde eine 5 mm hohe Schicht Würzeagar eingegossen und beimpft. Sobald das Substrat dicht bewachsen war, wurden die desinfizierten, von den Hüllblättern befreiten Knollen aufgebracht und die Schalen bei 18 bis 20 ° C und 90 % relativer Luftfeuchtigkeit aufgestellt. Das sterile Fließpapier, das im Deckel jeder Schale lag, wurde nach Bedarf mit sterilem Leitungswasser neu befeuchtet. Im allgemeinen blieben die Knollen unverletzt, um Saprophyten möglichst fernzuhalten. Nach 14 Tagen waren die Knollen dicht von Luftmyzel umgeben, das an der Oberfläche bereits Haftscheiben ausgebildet hatte. Nach drei Wochen zeigten sich Infektionsstellen in der Art der Abb. 5 (oben), nach fünf Wochen waren die Knollen völlig zerstört. Die Methode war so zuverlässig, daß bei sorgfältiger Auswahl des Materials schon fünf Knollen je Stamm zur Prüfung genügten. Insgesamt wurden 15 Stämme an 260 Knollen geprüft. Die Isolierungen von Gladiolen, die aus verschiedenen Teilen Deutschlands stammten, erwiesen sich ausnahmslos als pathogen, die *cinerea*-Stämme dagegen verhielten sich auch an verletzten Knollen völlig passiv (Abb. 9).

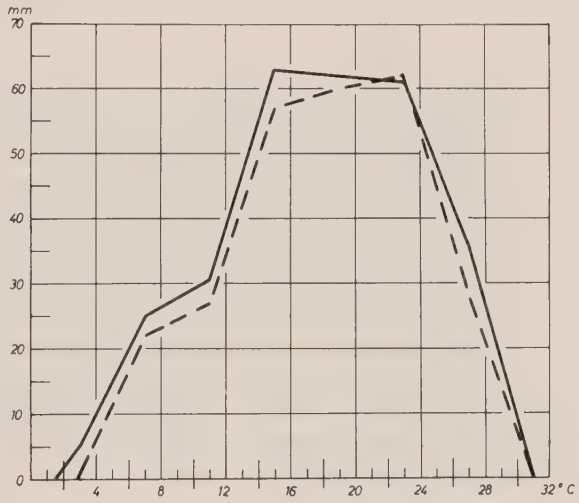


Abb. 8. Wachstum zweier Stämme von *Botrytis gladiolorum* in Kultur. Ordinate: Durchmesser der Kultur nach fünf Tagen. Abszisse: Grad Celsius

TIMMERMANS gibt an, daß auch auf *Crocus*, *Freesia* und *Tritonia* die Gladiolen-*Botrytis* vorkommt. HARRISON (1952) erwähnt eine *Botrytis*-Fäule an *Acidanthera*, ohne auf den Erreger näher einzugehen. Deshalb wurde ver-

sucht, mit den Isolierungen von Gladiole auch *Freesia*- und *Acidanthera*-Knollen zu infizieren.

An *Acidanthera*-Knollen aus Holland wurde im Frühjahr 1954 eine *Botrytis*-Fäule beobachtet, die der bekannten Fäule an Gladiolen völlig glich. Der isolierte Erreger verhielt sich in Kultur ebenso wie die Gladiolen-Stämme und wurde deshalb auf Pathogenität für Gladiolen, *Acidanthera* und *Freesia* geprüft. Von *Crocus, Freesia* und *Tritonia* konnte keine *Botrytis* isoliert werden.

Die Isolierungen von Gladiole und *Acidanthera* riefen an Gladiolen- und *Acidanthera*-Knollen eindeutig Kernfäule hervor, während sie unter den gleichen Bedingungen *Freesia*-Knollen nicht angriffen. Zwei frisch isolierte Stämme von Narzissenzwiebeln (*B. narcissicola*?) infizierten Gladiolenknollen nicht; ihr Verhalten gegenüber Narzissenzwiebeln konnte nicht geprüft werden.

Abb. 9. Infektionsversuch mit verschiedenen *Botrytis*-Stämmen
Links: *B. cinerea* verhält sich passiv, die Knollen treiben normal aus.
Rechts: *B. gladiolorum* umspinnt die Knollen. Die Fäule ist im Inneren so weit fortgeschritten, daß die Knollen nicht mehr austreiben. Äußerlich zeigen die Knollen zu diesem Zeitpunkt Symptome, wie sie etwa in Abb. 5. oben gezeigt sind

3. Systematische Stellung

Da KLEBAHN (1930) als erster eine *Botrytis* an Gladiolen beschrieben hatte, haben mehrere Autoren die von ihnen isolierten Erreger zu *B. gladioli* KLEBAHN gestellt, obwohl deren Konidienmaße mit den Werten KLEBAHNS nicht übereingestimmt hatten (MOORE 1939, DODGE & LASKARIS 1941, WADE 1946). TIMMERMANS (1941) hat später die neue Art *B. gladiolorum* aufgestellt, da sich die von ihr untersuchten Isolierungen in der Art der Konidienbildung, in der Farbe der Konidienträger und in den Konidienmaßen deutlich von *B. gladioli* KLEBAHN unterschieden. PEIRIS (1949) und SCHMIDT (1949) haben darauf hingewiesen, daß auch MOORE, DODGE

& Laskaris und Wade nach den angegebenen Sporenmaßen eher *B. gladiolorum* als *B. gladioli* vor sich gehabt haben.

Daß die hier beobachteten *Botrytis*-Stämme nicht zu *B. gladioli* gestellt werden können, geht aus ihren Konidienmaßen hervor, die sich stark denen von *B. gladiolorum* nähern. Es könnte höchstens zweifelhaft erscheinen, ob die Größenunterschiede zur Abgrenzung gegen *B. cinerea* ausreichen. Die Größe der Konidien beträgt bei *B. cinerea* durchschnittlich $10 \times 8\,\mu$ (Wollenweber 1932), doch zeigt der Vergleich der Stämme 10 und 7180, daß mit erheblichen Schwankungen zu rechnen ist. Beachtet man aber das unterschiedliche Verhalten in Kultur und die Tatsache, daß *B. cinerea* nur ein Schwächeparasit ist, während die Gladiolen-*Botrytis* in unverletzte Knollen und Blätter einzudringen vermag, so erscheint die Zuordnung zu einer besonderen Art gerechtfertigt. Aus diesen Gründen werden die hiesigen Isolierungen als identisch mit *Botrytis gladiolorum* Timmermans angesehen, die in allen Teilen der Welt die Gladiolen befällt.

E. Die Bekämpfung

Die Grundlagen für die Bekämpfung der *Botrytis*-Krankheit sind im Ausland bereits vor mehreren Jahren erarbeitet worden. Im einzelnen werden folgende Maßnahmen empfohlen:

1. Der Anbau von Gladiolen ist in Gegenden zu vermeiden, die regelmäßig längere Zeit mit Nebel oder Regen bei Temperaturen zwischen 13 und 18 ° C zu rechnen haben (McClellan, Baker & Gould 1948, 1949).

2. Während des ganzen Jahres sind laufend Abfälle und kranke Pflanzen vollständig zu entfernen, insbesondere abgeblühte Ähren, da sich auf ihnen massenhaft Sporen bilden (Magie 1953).

3. Wo die Witterungsbedingungen günstig für den Befall der Blätter und Blüten sind, ist regelmäßig mit Fungiziden zu stäuben oder zu spritzen. Bewährt haben sich Ferbam (Fe-carbamat), Nabam (Na-carbamat) und Zineb (Zn-carbamat) (Yoder 1950, Holloman & Young 1951, Magie 1951).

4. Im Herbst sind die Knollen so früh wie möglich zu ernten, ehe der Pilz vom Stengelstumpf her in die Knolle eingewachsen ist. Sie sind nachher bei 25 bis 30 ° C rasch und gründlich zu trocknen, damit sich kräftige Korkabgrenzungsgewebe bilden, und möglichst bald zu putzen. Ist eine Knolle erst sauber, allseitig verkorkt und völlig trocken, so wird sie auch bei niedrigen Temperaturen des Lagerraumes nicht mehr befallen (Stofmeel 1941). Einige Autoren empfehlen auch, die Knollen nach der Ernte mit Sublimat oder organischen Fungiziden zu behandeln (White 1945, Wade 1945, Simmons 1949).

In Deutschland war also nur nachzuprüfen, wieweit sich die empfohlenen Maßnahmen bewähren und in der Praxis durchführen lassen.

Die klimatischen Bedingungen in Mitteldeutschland sind nicht so ungünstig, daß regelmäßig mit schweren *Botrytis*-Schäden an Blättern und Blüten zu rechnen ist. In den meisten Fällen wird sogar auf eine Spritzung verzichtet werden können. Es ist in der Praxis durchaus möglich, die Abfälle und die kranken Pflanzen regelmäßig zu beseitigen, da die Bestände ohnehin durchgehackt werden; verkrüppelte Ähren können beim Blumenschnitt mit entfernt werden. Die Durchführung dieser Maßnahmen ist daher nur von der Aufmerksamkeit und Sorgfalt der Praktiker abhängig. Etwas schwieriger ist die Behandlung der Knollen im Herbst zu verwirklichen, da besondere Trockenräume selten zur Verfügung stehen. Die meisten Schnittblumenbetriebe ernten ihre Knollen heute im Oktober/November und lagern sie an irgendeinem Platz im Kasten, Gewächshaus oder Keller, bis irgendwann im Winter einmal Zeit zum Putzen ist. Sofern die Knollen wenigstens in flacher Schicht liegen, sind die Ausfälle noch erträglich; lagern sie aber wochenlang in Körben oder Kisten im kühlen Keller, so verfaulen nicht selten 70 bis 100 %.

Tabelle 1

Wirkung unterschiedlicher Behandlung der geernteten Knollen auf den Befall mit *Botrytis gladiolorum*

Getrocknet in:	Gewächshaus		Trockenkammer	
Sorte	Ausgangszahl	davon krank	Ausgangszahl	davon krank
Atlantik 12/14 cm	300	100	300	28
	300	2	500	37
	300	124	300	2
	300	105	300	37
	300	154	300	28
	237	68	237	30
Summe	1 737	553	1 737	152
%	100	**32**	100	**9**
Biarritz 10/12 cm	717	557	717	325
%	100	**88**	100	**46**
J. Strauß 12/14 cm	358	33	358	8
	300	90	300	17
	300	33	300	14
Summe	958	156	958	39
%	100	**16**	100	**4**

In den meisten Betrieben wäre es möglich, die Knollen in einem temperierten Gewächshaus zu trocknen. Die Einrichtung von besonderen heizbaren Trockenräumen, wie sie in Holland üblich sind (BALKENENDE 1951), wäre bereits erheblich schwieriger. Deshalb wurde im Herbst 1953 geprüft, ob eine

Behandlung der Knollen bei höherer Temperatur wesentliche Vorteile verspricht. Etwa 6500 Knollen der Sorten Atlantik, Biarritz und Johann Strauß wurden im Herbst 1953 je zur Hälfte in einem temperierten Gewächshaus (15 bis 20 ° C) und in einer Trockenkammer bei einer konstanten Temperatur von 35 ° C getrocknet, sofort geputzt, nachgetrocknet und dann bei 5 bis 10 ° C in flacher Schicht in einem trockenen Keller gelagert. Im April 1954 wurden die Knollen einzeln auf *Botrytis*-Befall untersucht. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 1. Es ist zu betonen, daß nur die Knollen gewertet wurden, die eindeutig von *Botrytis* zerstört waren; die übrigen Krankheiten blieben unberücksichtigt.

Die Zahlen zeigen, daß die Behandlung bei 35 ° C der Gewächshaustrocknung deutlich überlegen ist, offenbar, weil die Knollen in viel kürzerer Zeit gut abgetrocknet sind. Die Unterschiede fallen allerdings nur bei den stärker infizierten Sorten ins Gewicht. Man kann daraus schließen, daß sich die Einrichtung von besonderen Trockenräumen nur für größere Betriebe in besonders feuchten Klimaten lohnt.

In einem kleineren Versuch an 1000 Knollen der Sorte Red Fox wurde die Wirkung einer Behandlung mit einem Hg-Beizmittel und einem Thiocarbamat-Spritzmittel geprüft. Die Ergebnisse waren nicht zuverlässig, da die Knollen zu wenig befallen waren. Es hat aber den Anschein, daß im vorliegenden Falle die Trocknung mindestens ebensogut wirkte wie die Beizung.

Timmermans (1941) hat die wachsende Verbreitung der *Botrytis*-Krankheit darauf zurückgeführt, daß die neuen Gladiolensorten anfälliger sind als die früher bekannten. Wade (1945) hat mehrere australische Sorten als resistent bezeichnet. Es wurde daher an 40 Gladiolensorten geprüft, wieweit im deutschen Sortiment mit resistenten Sorten zu rechnen ist. Es standen je Sorte nur vier Knollen zur Verfügung, die in der üblichen Weise infiziert wurden. Wegen der geringen Zahl können weder negative Ergebnisse noch Unterschiede als signifikant gelten; es kann lediglich festgestellt werden, daß folgende Sorten mit Sicherheit von *Botrytis* befallen werden:

Adinda, Amidonette, Atlantik, Biarritz, Bloemfontein, B. Britten, L. Cranach, Dr. Dentz, Gen. Eisenhower, N. Europa, Dr. Fleming, Red Fox, Goldstaub, Hollands Glory, Hopmans Glory, H. Hopkins, J. v. Konijnenburg, A. Laurentia, Majuba, Mrs. Marks Memory, Marshal Montgomery, A. Nobel, Palet, Pactolus, Picardy, P. Rubens, Silhouet, Cardinal Spellman, Schneeprinzessin, Early Sunrise, Modern Times, Tivoli und Lilac Wonder.

Da die wichtigsten Handelssorten als anfällig gelten müssen, wird die direkte Bekämpfung für lange Zeit notwendig bleiben. Glücklicherweise ist sie wesentlich leichter durchzuführen als die *Fusarium*-Bekämpfung. Für die deutschen Verhältnisse dürfte es ausreichen, wenn die Knollen im Herbst rasch und gründlich getrocknet und vor dem Pflanzen gut durchsortiert werden. Die Zukunft muß lehren, ob zusätzlich eine Spritzung mit Fungiziden im Sommer notwendig wird.

Zusammenfassung

1. Seit etwa 1950 befällt in Deutschland eine *Botrytis*-Art Knollen, Blätter und Blüten der Kulturgladiolen. Die *Botrytis*-Krankheit verursacht vor allem in feuchten Jahren schwere Schäden.

2. Geschichte, Symptome und Verlauf der Krankheit werden unter Hinweis auf die ausländische Literatur kurz beschrieben.

3. Aus Knollen und Blättern von Gladiolen ist eine *Botrytis*-Art isoliert worden, die nicht mit *Botrytis gladioli* KLEBAHN oder *Botrytis cinerea* PERS. übereinstimmt. Sie wächst noch bei verhältnismäßig niedrigen Temperaturen gut (Opt. 15 bis 23 ° C) und befällt unverletztes Gewebe an voll gesunden Pflanzen. Offenbar liegt *Botrytis gladiolorum* TIMMERMANS vor, die in weiten Teilen der Welt verbreitet ist.

4. *B. gladiolorum* befällt nach eigenen Untersuchungen auch *Acidanthera*, nach ausländischen Angaben noch einige andere Iridaceen.

5. Die wichtigsten deutschen Handelssorten sind für *Botrytis* anfällig.

6. Die *Botrytis*-Infektion geht wahrscheinlich nicht vom Boden, sondern von kranken Knollen und herumliegenden Pflanzenresten aus. Je nach den Witterungsbedingungen herrschen in bestimmten Gegenden und Jahren einzelne Phasen der Krankheit vor. Die Krankheit kann in allen deutschen Anbaugebieten auftreten.

7. Rasches und gründliches Trocknen des Erntegutes verhütet die Knollenfäule am ehesten. Vor dem Pflanzen sollten alle kranken Knollen aussortiert, im Sommer alle Abfälle rasch und sorgfältig beseitigt werden. Zusätzlich kann es von Fall zu Fall nötig sein, das Laub mit Fungiziden zu spritzen.

Literaturverzeichnis

1. BALD, J. G., 1953: Neckrot phase of the *Botrytis* disease of Gladiolus. Phytopathology **43**, 167—171.

2. * COMEADOW, W. A., 1948: New fungicides for Gladiolus. Glad. Mag. **12**, 9—11, 40 (Rev. appl. myc. **28**, 455, 1949).

3. DIMOCK, A. W., 1940: Epiphytotic of *Botrytis* blight on Gladiolus in Florida. Plant Dis. Reptr. **24**, 159—161.

4. * DODGE, B. O., and LASKARIS, T., 1941: *Botrytis* core-rot of Gladiolus. N. Y. Bot. Gdn. (Sect. I) **42**, 92—95 (Rev. appl. myc. **20**, 409, 1941).

5. DRAYTON, F. L., 1927: Rept. Dom. Botanist for the year 1926, 10. Canada Dept. Agr.

6. — —, 1928: Rept. Dom. Botanist for the year 1927, 27. Canada Dept. Agr.

7. — —, 1929: Bulb growing in Holland and its relation to disease control. Scient, Agric. **9**, 494—509.

8. Harrison, J. R., 1952: *Pediculopsis* spec. — A mite found on *Acidanthera* and Gladiolus corms. Plant Pathology **1**, 119—120.

9. Hawker, L., 1946: Diseases of the Gladiolus III. *Botrytis* rot of corms and its control. Ann. appl. Biol. **33**, 200—208.

10. Hicks, A. J., 1931: Gladiolus diseases. Rept. Dom. Botanist for the year 1930, 19—20. Canada Dept. Agr.

11. * Hollomann, A., and Young, R. A., 1951: Evaluation of fungicides for the control of the leafspot disease of gladiolus caused by *Botrytis gladiolorum* Timmermans. Plant. Dis. Reptr. 35, 456—458 (Rev. appl. myc. 31, 186, 1952).

12. Klebahn, H., 1930: Zur Kenntnis einiger *Botrytis*-Formen vom Typus der *B. cinerea*. Z. f. Botanik **23** (Festschrift), 251—272.

13. McClellan, W. D., Baker, G. F., and Gould, G. J., 1948: Survey and appraisal of *Botrytis* disease on gladiolus crops. Florists Review, May 13, 19.

14. — —, — —, and — —, 1949: Occurrence of the *Botrytis* disease of Gladiolus in the US in relation to temperature and humidity. Phytopathology **39**, 260—271.

15. — —, and Marshall, B. H., 1950: Effect of temperature on the development of some diseases of Gladiolus, Narzissus and Lilium. Phytopathology **40**, 872.

16. McLean, N. A., 1948: New hosts for *Botrytis elliptica*. Phytopathology **38**, 752—753.

17. * Magie, R. O., 1951: *Botrytis* and *Curvularia* diseases of Gladiolus. Bull. N. Amer. Glad. Coun. 1—6 (Rev. appl. myc. **31**, 490, 1952).

18. — —, 1953: Some fungi that attack gladioli. in: USDA Yearbook 601—607.

19. Moore, D. C., 1939: Diseases of bulbs. Bull. Min. Agr. London 117.

20. — —, 1949: Diseases of bulbs. Bull. Min. Agr. London 117, 2. Aufl.

21. Neergard, P., 1950: 15 og sidste Ärsberetning fra J. E. Ohlsen's Enkes Plantepathologiske Laboratorium 1. 8. 1949—31. 7. 1950.

22. Noble, R. J., Hynes, H. J., McCleery, F. C., and Birmingham, W. A., 1934: Plant diseases recorded in New South Wales. Science Bull. NSW 46.

23. * Peiris, J. W., 1949: The *Botrytis* disease of gladiolus with special reference to the causal organism. Trans. Brit. Mycol. Soc. **32**, 291—304 (Rev. appl. myc. **29**, 306, 1950).

24. * Saravi Cisneros, R., 1946: Enfermedades de los bulbos de gladiolo en almaceniamento. Ann. rur. B. Aires **14**, 209—311 (Rev. appl. myc. **26**, 548, 1947).

25. Schmidt, T., 1949: Die *Botrytis*-Fäule der Gladiolen, eine für Österreich neue Krankheit. Pflanzenschutzber. **3**, 97—111.

26. * Simmons, S. A., 1949: Research on *Botrytis* corm rot. Bull. N. Amer. Glad. Coun. **17**, 93—94 (Rev. appl. myc. **28**, 399, 1949).

27. Sorauer, P., 1898: Die diesjährige Gladiolenkrankheit. Z. Pflanzenkrankh. **8**, 203—209.

28. Stofmeel, W. S., 1941: De *Botrytis*-aantasting van Gladiolusknollen en haar bestrijding. Tijdschr. Plt. Ziekt. **47**, 153—163.

29. Timmermans, A. S., 1941: Het *Botrytis*-rot der Gladiolen veroorzakt door *Botrytis gladiolorum* n. sp. Med. Lab. Bloembollenonderzoek **67**, 1—32.

30. TISDALE, W. B., 1940: Did *Botrytis* actually cause Gladiolus blight in Florida? Plt. Dis. Reptr. **24**, 285—287.

31. * WADE, G. C., 1945: The control of *Botrytis* corm rot of the gladiolus. J. Dept. Agr. Vict. **43**, 127—130 (Rev. appl. myc. **24**, 373, 1945).

32. * — —, 1946: *Botrytis* corm rot of the gladiolus — its cause and control. Proc. Roy. Soc. Vict. **57**, 81—123 (Rev. appl. myc. **25**, 394, 1946).

33. WHITE, N. H.: Plant Diseases Survey of Tasmania for the three year period 1943—1945. Tasmanian Dept. Agr., 30 pp.

34. WOLLENWEBER, H. W., 1932: Fungi imperfecti. in: Handbuch der Pflanzenkr. Bd. **3**, 5. Aufl., Parey, Berlin.

35. * YODER, D. M., 1949: Bulb diseases. N. Y. State Flower growers Bull. **49**, 4—5 (Rev. appl. myc. **29**, 307, 1950).

Die mit * bezeichneten Arbeiten lagen nur im Referat vor. Nr. 5, 6, 7, 10 und 22 wurden zitiert nach TIMMERMANS (1941).

Aus dem Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung der Hochschule für Bodenkultur in Wien

Vorstand: o. Prof. Dr. L. M. Kopetz

Untersuchungen und Beobachtungen über die Fadenkeimigkeit von Kartoffelknollen

Von

O. Steineck

Mit 3 Abbildungen

I. Einleitung

In Gebieten mit hohen Sommertemperaturen und länger dauernden Trockenperioden während der Vegetationszeit bildet oftmals ein hoher Prozentsatz der unter diesen Bedingungen erwachsenen Kartoffelknollen beim Ankeimen im Frühjahr nur dünne Keime aus. Der Anteil an Knollen mit Fadenkeimen, wie diese abnorm ausgebildeten Triebe bezeichnet werden, ist nicht alle Jahre gleich, er kann manchmal 80 bis 90 % betragen. Bei Verwendung von nicht vorgekeimtem wirtschaftseigenem Saatgut gelangen dann vielfach Knollen zum Anbau, die nur schwache Triebe hervorbringen, welche meistenteils nicht imstande sind, die Erde zu durchstoßen. Die Folge davon sind zahlreiche Fehlstellen und unausgeglichene Kartoffelbestände mit geringen Ertragsleistungen. An dem raschen Ertragsverfall in den im Osten Österreichs gelegenen Anbaugebieten mit ihrer trockenen und heißen Sommerwitterung und der in manchen Jahren ungünstigen Niederschlagsverteilung ist die Fadenkeimigkeit sicherlich maßgeblich beteiligt. Ihre nicht unerhebliche Bedeutung für die genannten Gebiete war Veranlassung, diese Abnormität der Triebbildung einer näheren Untersuchung zu unterziehen.

Über die Fadenkeimigkeit liegen eine Reihe von Untersuchungen und Mitteilungen vor. Nach Sorauer (1933) ist als Ursache der abnormen Triebbildung schlechte Wasserversorgung anzusehen. Die Knollen werden unter diesen Verhältnissen leicht notreif und die Augen dann nur schwächlich angelegt. Die verkümmerten Augen bringen dann nur fädige Keime hervor. Ungewöhnliche Hitze und große Trockenheit im Sommer während der Knollenbildung wird nach Koltermann (1927) von Appleman als Ursache der Fadenkeimigkeit angenommen. Zur Klärung der Frage, ob aus fadenkeimigen Knollen Stauden mit bestimmten Krankheiten hervorgehen, führte Koltermann (1927) mit einigen Sorten Versuche durch. Bei allen untersuchten Sorten konnte bei den aus schwachtriebigen Knollen hervorgegangenen Stauden keine bestimmte Krankheit festgestellt werden. Dykstra (1948) bezeichnet die Fadenkeimigkeit als eine vorübergehende physiologische Störung, da die Knollen von fadenkeimigen Stauden vielfach wieder normal dicke Triebe hervorbringen.

VERHOEVEN (1948) verweist auf eine vielfach gemachte Beobachtung, daß fädige Keime oftmals an durchgewachsenen Knollen der Sorte Bintje auftreten. Das Durchwachsen wird, wie auch in eigenen Versuchen feststellbar war (STEINECK 1952), durch einen Witterungsverlauf hervorgerufen, der durch abwechselnde, länger dauernde Trocken- und Feuchtigkeitsperioden charakterisiert ist. Diese Beobachtung stellt einen Hinweis dafür dar, daß als Ursache der Fadenkeimigkeit Hitzewirkungen während bestimmter Phasen der Knollenbildung anzunehmen sind. Vielfach wird die Ausbildung dünner Keime auch mit Viruskrankheiten, vor allem mit der Blattrollkrankheit in Zusammenhang gebracht. Nach VERHOEVEN (1948) sind jedoch fadenkeimige Knollen nicht immer blattrollkrank, und umgekehrt müssen blattrollinfizierte Knollen nicht fadenkeimig sein.

ZOGG, HORBER und SALZMANN (1949) führen das starke Auftreten der Fadenkeimigkeit bei den Knollen der Sorte Bintje im Frühjahr 1948 auf die große Sommertrockenheit des Jahres 1947 zurück. SALZMANN (1950) macht zwei grundlegend verschiedene Faktoren für das Auftreten der Fadenkeimigkeit verantwortlich. Einerseits erblickt er in der geschwächten Triebbildung einen Hinweis auf eine Blattrollinfektion, andererseits aber führt er die Ausbildung fädiger Keime auf hohe Temperaturen und große Trockenheit während der Vegetationszeit zurück.

Ungünstige Witterungseinflüsse führt auch WENZL (1950) für das häufige Auftreten der Fadenkeimigkeit in den östlichen Anbaugebieten von Österreich an. Zwischen Fadenkeimigkeit und *Colletotrichum atramentarium*-Welke bestehen nach WENZL (1950) eindeutige Zusammenhänge. Über den Pflanzgutwert fadenkeimiger Kartoffelknollen liegen Untersuchungen von WENZL und DEMEL (1952) vor. Es konnte nachgewiesen werden, daß die Ertragsleistungen fadenkeimiger Knollen wesentlich hinter jenen normaltriebiger Stauden zurückbleiben. Mehrjährige Untersuchungen über die Anfälligkeit verschiedener Kartoffelsorten für die Fadenkeimigkeit wurden von DEMEL und WENZL (1953) durchgeführt. In manchen Jahren konnten bei Frühsorten mehr als 90 % fadenkeimige Knollen festgestellt werden. Die Empfindlichkeit ist, zufolge den genannten Untersuchungen, sortenweise verschieden, und allgemein hat sich gezeigt, daß Spätrosen weniger anfällig als Frühsorten sind.

In diesem Zusammenhang seien die Ergebnisse von MAXA (1953) angeführt. Bei einer Untersuchung über die Wirkung des Abkeimens auf den Saatwert von Kartoffelknollen zeigte sich, daß nach einem dreimaligen Abkeimen eine große Anzahl von Knollen nur mehr sehr schwache Triebe, die als ausgesprochene Fadenkeime anzusprechen sind, ausgebildet hatte. Der Anteil schwachtriebiger Knollen war nach mehrmaligem Abkeimen bei kleinen Saatknollen wesentlich höher als bei großen. Inwieweit eine Erschöpfung der Knollen an Wuchsstoffen durch mehrmaliges Abkeimen als Ursache für die Bildung dünner, fädiger Triebe in Frage kommt, kann aus den Ergebnissen dieser Untersuchungen nicht gesagt werden. Zweifellos bringt das Abkeimen, wenn es mehrmals vorgenommen wird, erhebliche Verluste

an Reservestoffen mit sich. Es ist jedoch auch denkbar, daß nach öfterem Entfernen der Keime vielfach dann nur mehr oder weniger gut ausgebildete Beiknospen ankeimen und darin die Ursache der Ausbildung von Fadenkeimen zu suchen ist.

II. Eigene Untersuchungen

Das alljährlich mehr oder weniger starke Auftreten der Fadenkeimigkeit in Anbaugebieten mit Trockenhitzeperioden im Sommer war Veranlassung, diese Erscheinung näher zu untersuchen. Es stand vor allem die Frage nach der Ursache des Zustandekommens dieser abnormen Triebausbildung im Vordergrund, die in einigen Freilandversuchen behandelt wurde.

A. Mikroskopische Untersuchung

Durch eine mikroskopische Untersuchung sollte festgestellt werden, ob im anatomischen Bau von Augen fadenkeimiger und normaltriebiger Knollen Unterschiede bestehen. Es wurden mehrere Knollen der Sorte Sieglinde im Herbst in einem Wärmeschrank bei + 25° C aufgestellt und angekeimt. Die Keimung erfolgte im Dunkeln, und nach einigen Wochen war es einwandfrei möglich, Knollen mit ausgesprochenen Fadenkeimen und solche mit normalen Trieben herauszufinden. Mit Hilfe eines Korkbohrers wurden 20 Augen mit Fadenkeimen und 20 mit normal starken Trieben herausgebohrt und die Keime gekürzt. Das Härten der etwa 1 cm langen, zylindrischen Bohrstücke erfolgte in verschieden stark konzentriertem Alkohol, und zwar in der Weise, daß die Knollenstücke jeweils einen Tag lang in

Abb. 1. Schnitt durch Auge und Keim einer fadenkeimigen Knolle (etwa 50fach vergrößert)

Abb. 2. Schnitt durch ein normal ausgebildetes Auge (etwa 50fach vergrößert)

30%igen, 50%igen, 80%igen und 96%igen Alkohol gebracht wurden. Durch diese stufenweise Steigerung der Konzentration wurde erreicht, daß die Zellform ziemlich unverändert erhalten blieb. Die gehärteten Bohrstücke wurden sodann in Zelloidin gebettet und davon mit dem Mikrotom Längsschnitte durch die Mitte der Augen und des daran belassenen Keimstückes hergestellt (Abb. 1 und 2).

Es zeigte sich im Mikroskop bei einer etwa 50fachen Vergrößerung, daß alle Augen mit Fadenkeimen schwächer ausgebildet waren als jene von normaltriebigen Knollen. Die beiden Abbildungen geben die Ausbildung der Augen und Triebe recht gut wieder. Besonders gut läßt sich die schwächere Ausbildung der Knospenanlage am Verlauf der Gefäßbündel erkennen. Der Abstand der Gefäßbündel ist an der Ansatzstelle des Keimes und im Keim selbst bei den normal ausgebildeten Trieben wesentlich größer als beim Fadenkeim. Die abnorm dünne Triebbildung bei fadenkeimigen Knollen erscheint damit in einer anatomisch nachweisbaren schwächeren Ausbildung der Knospenanlage begründet.

B. Freilandversuche

In einem kleineren Tastversuch mit 20 fadenkeimigen Knollen der Sorte Allerfrüheste Gelbe wurde im Jahre 1949 das Verhalten der Tochterknollen hinsichtlich der Keimbildung untersucht. Die Knollen wurden im März in Tontöpfen ausgepflanzt und nach dem Aufgang noch einige Wochen im Glashaus gehalten, bis eine entsprechende Staudenentwicklung eingetreten war. Die Pflanzen wurden dann anfangs Mai mitsamt dem durchwurzelten Erdballen ins Freiland versetzt und reichlichst mit Nährstoffen und durch entsprechend häufiges Begießen mit Wasser versorgt. Die anfänglich schwächlich entwickelten Stauden zeigten bei dieser Behandlung später ein kräftiges Wachstum. Sieben Pflanzen waren eindeutig blattrollkrank, während an den übrigen Stauden keinerlei Krankheitserscheinungen feststellbar waren. Die Ernte erfolgte Mitte Juli bei noch grünem Laub. Die Stauden hatten normal große Knollen in entsprechender Anzahl ausgebildet. Diese wurden im Herbst bei 25° C in einem Wärmeschrank angekeimt. Die Triebbildung war bei allen Knollen, auch bei jenen der blattrollkranken Stauden, vollkommen normal. Dieses Ergebnis steht mit der Feststellung von DYKSTRA (1948), daß es sich bei der Fadenkeimigkeit um eine vorübergehende physiologische Störung handelt, im Einklang.

1. Abbauversuch 1949/50

Zur Klärung der Frage, inwieweit zwischen Trockenheit und hohen Temperaturen während der Vegetationszeit und dem Auftreten der Fadenkeimigkeit ein Zusammenhang besteht, ist das Ergebnis des Abbauversuches aus dem Jahre 1949 sehr aufschlußreich. Durch den Anbau von Sorten mit verschiedener Reifezeit bedingt, erfolgte die Knollenbildung zu verschiedenen Zeiten, was für die Behandlung der zu untersuchenden Frage günstig ist. Beim Ankeimen im Frühjahr 1950 war ein hoher Prozentsatz der Knollen beider Nachbaustufen fadenkeimig.

Der Versuch wurde mit den Sorten Allerfrüheste Gelbe, Olympia und Ackersegen durchgeführt. Der Anbau erfolgte am 28. IV. auf der Versuchswirtschaft Groß-Enzersdorf der Hochschule für Bodenkultur in Wien. Die wichtigsten Versuchsdaten sind in folgender Tabelle angegeben:

Tabelle 1

Versuchsdaten Abbauversuch 1949/50

Beobachtungen	Allerfrüheste Gelbe		Olympia		Ackersegen	
	Orig.	I. Nb.	Orig.	I. Nb.	Orig.	I. Nb.
Aufgang	17. 5.	9. 5.	17. 5.	9. 5.	17. 5.	9. 5.
Blühbeginn	16. 6.	15. 6.	15. 6.	13. 6.	20. 6.	13. 6.
Blühende	8. 7.	13. 7.	16. 7.	14. 7.	27. 7.	27. 7.
Ernte	26. 8.	26. 8.	15. 9.	15. 9.	28. 9.	28. 9.

Orig. = Originalsaatgut I. Nb. = 1. Nachbau

Was nun den Witterungsverlauf des Jahres 1949 anlangt, ist eine Trockenperiode auffallend, die am 11. Juli beginnt und am 10. August endet. Die während dieses 30 Tage umfassenden Zeitraumes fallende Niederschlagsmenge beträgt insgesamt 21,2 mm, das Tagesmittel der Temperatur 21,7° C.

Beim Ankeimen des Erntegutes von Originalsaatgut und 1. Nachbau im Frühjahr 1950 konnten bei den untersuchten Sorten folgende Anteile fadenkeimiger und nicht gekeimter Knollen festgestellt werden:

Tabelle 2

Prozentsatz nicht gekeimter und fadenkeimiger Knollen

Sorte und Nachbaustufe		fadenkeimig %	nicht gekeimt %	Summe %
Allerfrüheste Gelbe	Orig.	31,2	20,7	51,9
	I. Nb.	37,9	3,6	41,5
Olympia	Orig.	17,2	15,8	33,0
	I. Nb.	18,6	13,4	32,0
Ackersegen	Orig.	3,0	5,7	8,7
	I. Nb.	7,1	9,8	16,9

Auffallend ist der hohe Anteil fadenkeimiger und nicht keimender Knollen bei der Sorte Allerfrüheste Gelbe. An zweiter Stelle folgt die Sorte Olympia, während die Sorte Ackersegen die geringste Anzahl abnorm und nicht keimender Knollen aufweist.

Diese Tatsache kann unter der Annahme, daß die Fadenkeimigkeit durch Trockenheit und hohe Temperatur während der Knollenbildung zustande kommt, in folgender Weise gedeutet werden. Während die Blüte der Sorten Allerfrüheste Gelbe und Olympia am Beginn der Trockenperiode (11. Juli) ihren Abschluß findet, erstreckt sich die Blühzeit der Spätsorte Ackersegen bis in die Mitte der 30 Tage andauernden Trockenperiode. Die Anlage der ersten Knollen fällt nach Norden (1929) zeitlich mit der Blüte zusammen. Diese Tatsache gibt Berechtigung zu der Annahme, daß das Hauptwachstum, vor allem der später angesetzten Knollen, bei den Sorten

Allerfrüheste Gelbe und Olympia zu einem großen Teil während der Trokken-Hitzeperiode erfolgte. Der im Vergleich zur Sorte Olympia stärkere Befall der Sorte Allerfrüheste Gelbe kann auf eine sortenweise bedingte unterschiedliche Anfälligkeit zurückgeführt werden. Allerdings erscheint es auch nicht ausgeschlossen, daß der verschiedene Befall beider Sorten durch eine nicht zum gleichen Zeitpunkt stattfindende Knollenbildung zustandekommt. Der höhere Prozentsatz an fadenkeimigen und nicht keimenden Knollen der Sorte Allerfrüheste Gelbe wäre dann in der Weise zu erklären, daß das Hauptwachstum der Knollen bei dieser Sorte zu einem größeren Teil als bei der Sorte Olympia in der Trockenperiode erfolgte. Die Unterschiede im Befall zwischen den Nachbaustufen, der vor allem bei der Sorte Allerfrüheste Gelbe deutlich in Erscheinung tritt, ist wahrscheinlich auf den zeitlich verschiedenen Aufgang zurückzuführen. Bei dem am 9. V. aufgegangenen 1. Nachbau erfolgte die Knollenbildung infolge des Entwicklungsvorsprunges gegenüber dem um 8 Tage später aufgegangenen Originalsaatgut zweifellos früher und damit zu einem geringeren Teil in der Trockenperiode.

Den geringsten Anteil fadenkeimiger Knollen weist die Spätsorte Ackersegen auf. Es kann wohl kaum ein Zweifel darüber bestehen, daß dies größtenteils mit dem zu einem späteren Zeitpunkt stattfindenden Hauptwachstum der Knollen zusammenhängt. Der Beginn des Knollenansatzes fällt, wie aus den Blühdaten geschlossen werden kann, noch in die Trockenperiode. Die weitaus größte Anzahl der Knollen wurde jedoch aller Wahrscheinlichkeit nach in der am 10. August beginnenden Feuchtigkeitsperiode angelegt und ausgebildet. Auffallend ist der höhere Prozentsatz an fadenkeimigen und nichtgekeimten Knollen beim 1. Nachbau. Auch hier spielt anscheinend der zeitlich verschiedene Aufgang der Nachbaustufen herein, und zwar in umgekehrter Weise wie bei der Sorte Allerfrüheste Gelbe. Durch den um 8 Tage früher erfolgten Aufgang des 1. Nachbaues gelangten bei dieser Saatstufe mehr Knollen noch in der Trockenperiode zur Ausbildung, als bei dem erst am 17. V. aufgegangenen Originalsaatgut. Für diese Annahme spricht der doppelt so hohe Anteil an fadenkeimigen und nicht gekeimten Knollen beim 1. Nachbau.

2. Zeitstufenversuch 1950/51

Dieser Versuch wurde mit dem Zweck angelegt, die Eignung des Spätanbaues von Kartoffeln zur Pflanzguterzeugung zu überprüfen, wie dies von LYSSENKO (1951) vorgeschlagen wird. Zur versuchsmäßigen Behandlung der Frage der Fadenkeimigkeit erscheint eine Zeitstufensaat insofern geeignet, als es durch eine zu mehreren Zeitpunkten vorgenommene Aussaat möglich ist, die Knollenbildung in verschiedene Zeiträume während der Vegetation zu verlegen. Es ist also auf diese Weise am ehesten zu erreichen, daß die Knollenbildung der einen oder anderen Zeitstufe teilweise oder gänzlich in eine, naturgemäß nicht alljährlich zum gleichen Zeitpunkt auftretende Trocken-Hitzeperiode fällt.

Der Versuch umfaßte vier Zeitstufen und wurde 1950 mit Originalsaatgut der Sorten Allerfrüheste Gelbe und Olympia auf der Versuchswirtschaft Groß-Enzersdorf der Hochschule für Bodenkultur in Wien durchge-

führt. In nachstehender Tabelle sind die wichtigsten Versuchsdaten angegeben.

Der Witterungsverlauf des Jahres 1950 ist durch zwei Trockenperioden gekennzeichnet. Die erste mit einer Dauer von etwa 50 Tagen erstreckt sich von Mitte Mai bis anfangs Juli. Die Tagestemperatur (Tagesmittel) steigt erst Ende Mai auf 21° C an, bewegt sich im Juni zwischen 20° und 22° und erreicht anfangs Juli 27,4° C. Die darauf folgende regenreichere Periode dauert bis 5. August. Die Niederschlagsmenge für diesen Zeitraum beträgt insgesamt 115,3 mm. Eine zweite praktisch niederschlagsfreie Periode mit einer Dauer von etwa 25 Tagen erstreckt sich von Anfang bis Ende August. Während dieser extrem trockenen Witterung bewegt sich die Temperatur (Tagesmittel) zwischen 20° und 23° C. Anschließend folgt eine mehr feuchte Periode mit niedrigeren Temperaturen (16° bis 18° C).

Tabelle 3

Versuchsdaten zum Zeitstufenversuch 1950/51

	Sorte Allerfrüheste Gelbe				Sorte Olympia			
	Zeitstufe				Zeitstufe			
	I.	II.	III.	IV.	I.	II.	III.	IV.
Anbau	3. 4.	3. 5.	7. 6.	10. 7.	3. 4.	3. 5.	7. 6.	10. 7.
Aufgang	5. 5.	16. 5.	21. 6.	22. 7.	7. 5.	16. 5.	21. 6.	22. 7.
Blühbeginn	6. 6.	14. 7.	25. 7.	—	12. 6.	15. 7.	29. 7.	—
Zeit Aufgang bis Blüte (Tage)	32	59	34	—	36	60	38	—
Ernte	1. 9.	1. 9.	6. 10.	13. 9.	13. 9.	13. 9.	6. 10.	24. 10.
Ertrag in kg/100 m²	237	182	250	148	239	178	221	202
Fadenkeimige Knollen in %	20,0	31,0	5,0	0,0	7,0	17,5	0,0	0,0

Wie aus Tabelle 3 ersichtlich, ergab sich bei der im Frühjahr 1951 vorgenommenen Keimprobe hinsichtlich der Triebausbildung folgendes Bild: Der ungünstige Verlauf der Witterung im Jahre 1950 wirkte sich am deutlichsten auf die Entwicklung der Pflanzen der zweiten Zeitstufe aus. Bei beiden Sorten ist der Anteil fadenkeimiger Knollen bei dieser Zeitstufe am höchsten, und zwar bei der Sorte Allerfrüheste Gelbe fast doppelt so hoch wie bei der Sorte Olympia. Auffallend ist außerdem der späte Blühbeginn bei der zweiten Zeitstufe, der erst 60 Tage nach Aufgang verzeichnet werden konnte, während bei den anderen Zeitstufen die Blüte bereits 32 bis 38 Tage nach Aufgang begann. Die Verzögerung der Blüte ist als Ausdruck einer empfindlichen Entwicklungsstörung aufzufassen, welche durch die bald nach dem Aufgang einsetzende Trockenheit bedingt erscheint. Es ist anzunehmen, daß die ungünstigen Entwicklungsbedingungen zu einem Wachstumsstillstand führten und damit eine Verzögerung und Verringerung der Knollenbildung mit sich brachten. Dafür spricht der bedeutend geringere Ertrag der zweiten Zeitstufe im Vergleich zur ersten und dritten Zeitstufe bei beiden Sorten. Offenbar steht auch der hohe Anteil fadenkeimiger Knollen der zweiten Zeitstufe mit den ungünstigen Witterungsbedingungen im Zusammenhang.

Sowohl bei der ersten als auch bei der zweiten Zeitstufe ist der Prozentsatz fadenkeimiger Knollen bei der Sorte Allerfrüheste Gelbe bedeutend höher als bei der Sorte Olympia. Diese Tatsache kann als eine sortenweise bedingte, verschiedene Neigung zu Fadenkeimigkeit gedeutet werden. Eine genaue Erklärung für diese Tatsache kann aus dem Ergebnis vorliegenden Versuches nicht gegeben werden. Die Knollenbildung der III. Zeitstufe erfolgte offenbar außerhalb der Trocken-Hitzeperiode, und in der Weise erklärt sich der geringe Prozentsatz schwachtriebiger Knollen bei beiden Sorten.

Erwähnt sei noch, daß bei keiner Sorte und Zeitstufe welkekranke Stauden gefunden wurden. Im Frühjahr waren die Knollen mit Fadenkeimen im Gegensatz zu jenen mit normaler Keimbildung ausgesprochen hart.

3. Beobachtungen über die Fadenkeimigkeit bei einjährigen Kartoffelsämlingen 1952/53

Die Knollenbildung erfolgt bei einjährigen Kartoffelsämlingen infolge genetisch und photoperiodisch bedingter unterschiedlicher Reifezeit (KOPETZ, L. M., und STEINECK, O., 1954), in verschiedenen Zeiträumen. Hinsichtlich des Zeitpunktes des Kollenwachstums gibt es zwischen den Extremen früh und spät fließend alle Übergänge. Die Verlegung der Knollenbildung in verschiedene Zeiträume, die man durch Anbau von Sorten mit verschiedener Reifezeit oder durch Stufensaaten herbeiführen kann, ist bei einjährigen Sämlingen infolge der Aufspaltung in zahlreiche Typen mit unterschiedlicher Reifezeit von Natur aus gegeben. Sie stellen unter der Annahme, daß Trockenheit und Hitze während der Knollenbildung als Ursache der Fadenkeimigkeit anzusehen sind, ein geradezu ideales Untersuchungsmaterial dar, weil unabhängig davon, wann die Trockenperiode während der Wachstumszeit auftritt, immer die Möglichkeit gegeben ist, daß die Knollenbildung von einer Anzahl Pflanzen zum Teil oder völlig in diesen Zeitraum fällt.

Im Jahre 1952 wurden insgesamt 1183 einjährige Sämlinge ausgepflanzt, hervorgegangen aus einer Kreuzung der Sorten Bintje × Flava, Sieglinde × Flava und aus einer Selbstung der Sorte Sieglinde. Sie wurden in 8-cm-Tontöpfen im Glashaus angezogen und am 16. April ins Freiland im Versuchsgarten der Hochschule für Bodenkultur in Wien ausgepflanzt. Die Ernte erfolgte, den verschiedenen Reifezeiten der Sämlinge Rechnung tragend, in zwei Etappen. Die erste Ernteperiode erstreckte sich vom 4. bis 10. Juli, die zweite vom 24. bis 30. Juli.

Der Witterungsverlauf für die Monate Mai bis Juli 1952 ist aus nachfolgender Zusammenstellung ersichtlich. Von der Temperatur sind die Fünftagemittel, vom Niederschlag die Fünftagesummen angegeben. Die Zusammenstellung erfolgte nach den Messungen des Institutes für Meteorologie und Klimatologie an der Hochschule für Bodenkultur in Wien.

Wie obige Zusammenstellung zeigt, war die Witterung im Mai mehr kühl und feucht. Die Niederschläge waren ausreichend und ziemlich gut verteilt. In gleicher Weise herrschten im Juni keine extremen klimatischen Bedingungen. Die Temperatur war höher und die Niederschlagsmenge etwas

Tabelle 4
Temperatur und Niederschlag, Mai—Juli 1952

Zeitraum	Temperatur in Grad C Fünftagemittel			Niederschlag in mm Fünftagesumme		
	Mai	Juni	Juli	Mai	Juni	Juli
1.— 5.	18,8	19,1	26,4	4,2	5,3	0,0
6.—10.	18,8	16,8	21,5	23,6	11,5	0,0
11.—15.	14,7	18,9	23,4	3,0	7,2	4,1
16.—20.	10,1	20,5	19,6	8,5	17,1	7,5
21.—25.	10,0	16,6	22,3	41,2	35,7	0,0
26.—30.	14,3	18,7	18,4	15,5	2,3	2,7

geringer als im Vormonat, ihre Verteilung jedoch günstig. Wesentlich anders war der Witterungsverlauf im Juli. Die geringen Niederschlagsmengen, die während des ganzen Monats fielen, sind praktisch bedeutungslos. Die Temperatur zeigte in dieser regenlosen Periode einen starken Anstieg und war wesentlich höher als in beiden Vormonaten. Die Witterung war demnach in diesem Zeitraum als ausgesprochen trocken und heiß zu bezeichnen.

Die Ernte der ersten Gruppe der Sämlinge fiel zeitlich mit dem Beginn der Trockenperiode zusammen, die der zweiten Gruppe erfolgte nach etwa drei Wochen extrem trocken-heißer Witterung. Die Lagerung der getrennt nach Pflanzen geernteten Sämlinge erfolgte in Steigen in einem Keller. Die Keimbildung wurde im Frühjahr 1953 beurteilt. Bei der Ende März vorgenommenen Auszählung wurden folgende Zahlen ermittelt:

Tabelle 5
Anzahl und Prozentsatz von Sämlingen mit fadenkeimigen Knollen, 1953

	Zahl der Sämlinge	davon fadenkeimig	Fadenkeimige Pflanzen in %
Bintje × Flava	115	15	13,0
Sieglinde Selbstung	230	43	18,7
Sieglinde × Flava	741	112	15,1
Insgesamt	1086	170	15,6

Von den insgesamt 1183 ausgepflanzten Sämlingen bildeten auf Grund ihrer photoperiodischen Reaktion 48 Pflanzen keine Knollen aus. Es handelt sich bei diesen um Kurztagtypen, wie in eigenen Versuchen nachgewiesen werden konnte (Kopetz, L. M., und Steineck, O., 1954). Bei dem Rest der fehlenden Sämlinge handelt es sich zum Teil um Kümmerpflanzen und um solche, die durch Beschädigungen verschiedener Art frühzeitig zugrunde gegangen waren.

Was nun die Ausbildung der Keime anlangt, schwankt der Prozentsatz von Sämlingen mit fadenkeimigen Knollen von 13,0 % bis 18,7 % und beträgt im Durchschnitt 15,6 %. Der unterschiedliche Prozentsatz an fadenkeimigen Pflanzen bei den einzelnen Nachkommenschaften könnte mit einer verschieden starken Neigung der Elternformen zu Fadenkeimigkeit in Zu-

sammenhang stehen. Der höhere Anteil an Pflanzen mit schwachtriebigen Knollen bei den Sämlingen, die aus einer Selbstung der Sorte Sieglinde stammen, ist auffallend und rechtfertigt diese Annahme.

Der Zusammenhang zwischen trocken-heißer Witterung und Fadenkeimigkeit läßt sich eindeutig durch die Gegenüberstellung des Prozentsatzes an Sämlingen mit fadenkeimigen Knollen beim ersten und zweiten Erntetermin aufzeigen.

Tabelle 6

Fadenkeimigkeit bei den zum ersten und zweiten Termin geernteten Sämlingen

	Bintje × Flava		Sieglinde Selbstung		Sieglinde × Flava	
	1. Ernte 4.—10. 7.	2. Ernte 24.—30. 7.	1. Ernte 4.—10. 7.	2. Ernte 24.—30. 7.	1. Ernte 4.—10. 7.	2. Ernte 24.—30. 7.
Zahl der Sämlinge	63	52	105	125	358	383
Sämlinge mit fadenkeimigen Knollen	6	9	14	29	35	77
Fadenkeimige Sämlinge in %	9,5	17,3	13,2	23,2	9,8	20,1

Von den einzelnen Nachkommenschaften wurde annähernd die Hälfte der Sämlinge in der Zeit vom 4. bis 10. Juli und der Rest vom 24. bis 30. Juli geerntet. Die erste Erntegruppe war also wesentlich kürzer der Trockenheit und Hitze ausgesetzt als die zweite. Der bedeutend höhere Anteil an Sämlingen mit fadenkeimigen Knollen bei der zweiten Erntegruppe ist daher zweifellos auf die Einwirkung der trocken-heißen Witterung während der Knollenbildung zurückzuführen. Durch die in zwei verschiedenen Zeiträumen vorgenommene Ernte kommt diese Tatsache eindeutig zum Ausdruck. Der geringere Anteil von Sämlingen mit fadenkeimigen Knollen bei der ersten Gruppe ist sicherlich einerseits darauf zurückzuführen, daß ein großer Teil der Pflanzen die Knollenbildung bereits abgeschlossen hatte, andererseits aber spielt zweifellos die nur kurze Einwirkung der abnormen Witterungsverhältnisse eine ausschlaggebende Rolle. Das Hauptwachstum der Knollen von den spätreiferen Pflanzen der zweiten Gruppe fällt größtenteils in die Trockenperiode und damit läßt sich der höhere Anteil an Sämlingen mit schwachtriebigen Knollen erklären. Der Zusammenhang zwischen Trockenheit und Hitze während der Knollenbildung und der Fadenkeimigkeit tritt bei den Sämlingen eindeutig zu Tage.

Bei der Feststellung der Keimbildung im Frühjahr 1953 konnten dem Ausmaß nach graduell verschiedene Schädigungen beobachtet werden. Die Erscheinungsformen der Fadenkeimigkeit lassen sich auf Grund dieser Beobachtungen in folgender Weise beschreiben:

Totale Fadenkeimigkeit: Alle Augen von allen Knollen einer Pflanze bilden Fadenkeime aus.

Partielle Fadenkeimigkeit: Diese kann sich in verschiedener Weise äußern, und zwar

1. ein Teil der Knollen bildet an allen Augen normale Keime aus, ein Teil keimt aus allen Augen mit Fadenkeimen aus;
2. ein Teil der Knollen treibt aus allen Augen normal aus, die restlichen Knollen bilden sowohl normale und Fadenkeime aus;
3. von allen Knollen einer Pflanze bringen einige Augen normale Keime hervor und einige Augen Fadenkeime.

Eine Erklärung für das Zustandekommen der verschiedenen Erscheinungsformen der Fadenkeimigkeit ist in der Weise möglich, daß entweder während der Ausbildung aller Knollen Hitze und Trockenheit herrscht (totale Fadenkeimigkeit), oder daß die Knollenbildung nur zum Teil in einer Trockenperiode stattfindet (partielle Fadenkeimigkeit) (Abb. 3).

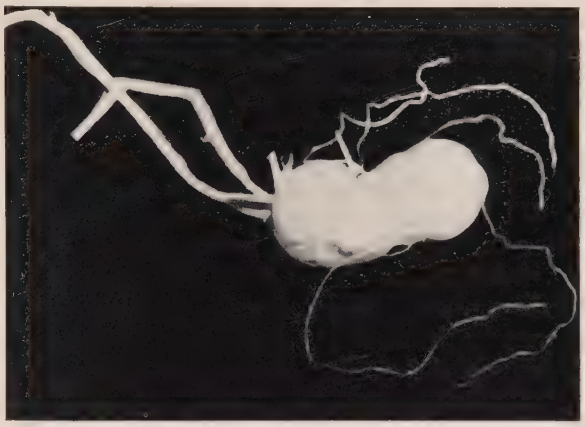


Abb. 3. Partiell fadenkeimige Knolle

Die partielle Fadenkeimigkeit der in Abb. 3 gezeigten Kartoffelknolle ist ohne Zweifel auf eine trockenheiße Witterung während der ersten Zeit des Knollenwachstums und nachträglich günstigeren Entwicklungsbedingungen zurückzuführen. Sehr häufig konnte jedoch auch beobachtet werden, daß die Augen auf der Nabelhälfte normal austreiben und die auf der Kronenhälfte Fadenkeime ausbilden. In diesem Falle erklärt sich die partielle Fadenkeimigkeit in der Weise, daß zu Beginn der Knollenbildung günstige Bedingungen waren und der Abschluß des Knollenwachstum in einer Trockenperiode erfolgte.

Die Frage, ob die Eigenschaft „Neigung zu Fadenkeimigkeit" sortentypisch ist, kann auf Grund des untersuchten Materials eindeutig beantwortet werden. Jeder Sämling ist eine Sorte, und eine Gegenüberstellung der Keimbildung von Pflanzen mit gleich weit fortgeschrittener Entwicklung während der Trockenperiode läßt einen sicheren Rückschluß auf die genannte Eigenschaft zu. Die Einwirkung der ungünstigen Bedingungen erfolgte also bei all diesen Sämlingen im gleichen Stadium der Knollenbildung und das ist für die Klärung gerade dieser Frage eine wesentliche Voraussetzung.

In nachfolgender Zusammenstellung sind jene Sämlinge von der zweiten Erntegruppe der Kreuzung Sieglinde × Flava angeführt, deren Kraut-Knollenverhältnis zwischen 40 : 60 % und 60 : 40 % lag. Die erste Zahl bedeutet den Krautanteil, die zweite Zahl den Knollenanteil vom Gesamtpflanzengewicht.

Tabelle 7

Keimbildung bei Sämlingen mit gleichem Entwicklungsstadium

Knollengewicht in g	Anzahl der Sämlinge	Sämlinge mit normalen Keimen	Sämlinge mit Fadenkeimen	Fadenkeimige Sämlinge in %
200—599	89	71	18	20,2
600—1000	83	74	19	22,9
Insgesamt	172	145	37	21,5

Wie aus obiger Tabelle entnommen werden kann, bilden nur etwa ein Fünftel der Sämlinge beider Gewichtsklassen Knollen mit Fadenkeimen aus, während die Knollen der übrigen Sämlinge normale Triebbildung zeigen. Es kann darüber kaum ein Zweifel bestehen, daß das Hauptwachstum der Knollen in gleichem Ausmaß bei allen angeführten Sämlingen, wenn schon nicht gänzlich, so doch zu einem erheblichen Teil während der Trockenperiode im Juli erfolgte. Die Tatsache, daß aber nur ein Teil der Sämlinge fadenkeimige Knollen ausgebildet hat, ist ein eindeutiger Beweis dafür, daß die Neigung zu dieser abnormen Triebbildung erblich bedingt und daher als eine sortentypische Eigenschaft anzusehen ist. Es läßt sich dieses Verhalten kaum durch eine andere Annahme erklären, da Entwicklungsstadium und Wachstumsbedingungen für alle Sämlinge gleich waren. Es erscheint daher notwendig, bei der Züchtung neuer Sorten der Eigenschaft „Neigung zu Fadenkeimigkeit" größere Aufmerksamkeit zu schenken, denn in mehr trokkenen Anbaugebieten ist sie von nicht unerheblicher Bedeutung.

4. Versuche 1953/54

Im Jahre 1953 wurden auf der Versuchswirtschaft Groß-Enzersdorf der Hochschule für Bodenkultur in Wien ein Frührodeversuch und ein Bewässerungsversuch durchgeführt. Bei der Aufarbeitung des Materials im Frühjahr 1954 konnten hinsichtlich der Keimbildung der geernteten Knollen wertvolle Beobachtungen über das Auftreten der Fadenkeimigkeit gemacht werden.

a) Früherntеversuch

Die Anlage des Versuches erfolgte mit Originalsaatgut der Sorte Erstling am 27. März 1953 nach der Methode FISHER (1948) in vierfacher Wiederholung mit zufälliger Verteilung der fünf Versuchsglieder innerhalb des Blocks. Die Parzellengröße betrug 20 m². Am 26. Juni wurde, nach vorheriger Ermittlung des Blattlausbesatzes nach der Hundert-Blatt-Methode, bei vier Versuchsgliedern das Kraut in vier unterschiedlichen Verfahren entfernt, bei einer Behandlungsstufe aber bis zur Aberntung aller Parzellen am 16. Juli belassen. Die Knollen gelangten getrennt nach Behandlungsstufen in Steigen gleichartig gelagert zur Aufbewahrung.

Die Verteilung der Niederschläge im Jahre 1953 war bis 15. Juni sehr günstig. Es folgte von diesem Zeitpunkte an eine Periode mit trockener Witterung und gleichzeitigem Temperaturanstieg. Unterbrochen wurde die Trockenheit durch einen am 4. Juli fallenden Niederschlag von 34 mm. Vom

vorzeitigen Krautentfernen, das am 26. Juni erfolgte, bis zur Ernte am 16. Juli herrschte also größtenteils trocken-heiße Witterung.

Der Ertrag im Jahre 1953 und der Anteil fadenkeimiger Knollen, ermittelt im Frühjahr 1954, sind in nachfolgender Zusammenstellung angegeben. Von den vier verschiedenen Behandlungsarten des frühzeitigen Krautentfernens ist der Mittelwert, errechnet aus allen vier Behandlungsstufen, angegeben, weil sie hinsichtlich Ertragsleistung und Fadenkeimigkeit ein vollkommen gleichsinniges Verhalten zeigten.

Tabelle 8
Ertrag und Fadenkeimigkeit, Früherntеversuch 1953/54

Behandlungsstufe	Ertrag dz/ha	Fadenkeimige Knollen, %
Normalernte	251,4	16,8
Kraut frühzeitig entfernt	167,6	1,4

Der Ertrag war, wie zu erwarten, bei allen Versuchsgliedern, bei welchen das Kraut 20 Tage vor der Ernte entfernt wurde, bedeutend geringer als bei den unbehandelten Teilstücken, deren Stauden bis zur Ernte belassen wurden. Durch das Krautentfernen wurde das Knollenwachstum am Beginn der Trockenperiode zum Stillstand gebracht. Es erfolgte in den 20 Tagen bis zur Aberntung bei den unbehandelten Kontrollpflanzen noch ein namhafter Zuwachs an Knollen während der Trockenheit, wie im Ertrag deutlich zum Ausdruck kommt. Die Ausbildung der Knollen hat unter diesen ungünstigen Entwicklungsbedingungen gelitten. Der bedeutend höhere Anteil an fadenkeimigen Knollen der Normalernteparzellen läßt gerade bei diesem Versuch einwandfrei den Zusammenhang zwischen Auftreten der Fadenkeimigkeit und trockenheißer Witterung erkennen. Aus dem Ergebnis dieses Versuches geht auch eindeutig hervor, daß Schädigungen in Form der Fadenkeimigkeit durch Hitze nur bei wachsenden Pflanzen auftreten. Wird das Wachstum bewußt durch vorzeitiges Krautentfernen oder durch den natürlichen Reifungsvorgang eingestellt, dann sind Schädigungen durch Fadenkeimigkeit nicht mehr zu befürchten, auch wenn die Knollen noch einige Zeit bei trocken-heißer Witterung im Boden verbleiben.

b) Bewässerungsversuch

Auf einem Dauerdüngungsversuch im Zuchtgarten der Versuchswirtschaft Groß-Enzersdorf der Hochschule für Bodenkultur in Wien wurde Originalsaatgut der Sorte Jakobi gebaut. Der Versuchsschlag war in vier Teile unterteilt, von welchem zwei bewässert und zwei nicht bewässert wurden.

Die Wassergaben wurden bei diesem Versuch nach den von Kopetz (1953, 1954, 1954 a) vorgeschlagenen Grundsätzen der Bewässerung nach Anbot verabreicht. Das Wesen dieser neuen Anwendungsform der künstlichen Beregnung besteht darin, daß der Pflanze während ihres ganzen Wachstums ständig ein optimales Wasseranbot aufrecht erhalten wird, um so Wachstumsstillstände infolge Wassermangels in regenarmen Perioden zu vermeiden. Um dieser für das Pflanzenwachstum grundlegenden Forderung in vollem Umfange Rechnung zu tragen, ist eine laufende Kontrolle des Wassergehaltes des Bodens notwendig, die mit einem einfachen aber genügend genau arbeitendem Schnellverfahren erfolgt. Sinkt der Wassergehalt im Boden unter 50 % der Wasserkapazität, dann ist der Zeitpunkt für die Verabreichung einer künstlichen Wassergabe gegeben. Es wird also bei dem von Kopetz (1953, 1954, 1954 a) vorgeschlagenem System der Bewässerung nach Anbot der Zeitpunkt der Wassergabe auf Grund einer Meßgröße und nicht, wie vielfach bisher, nach Gefühl ermittelt. Es wird auf diese Art, und das ist besonders hervorzuheben,

der Pflanze ständig ein für ihr Wachstum gleichbleibendes, optimales Wasseranbot gesichert.

Die Anlage des Versuches erfolgte am 8. April nach der Standardmethode. Die Parzellengröße betrug 13,5 m². Aufgang konnte am 26. April verzeichnet werden. Zur Aufrechterhaltung des optimalen Wasseranbotes waren insgesamt sechs Beregnungen zu je 30 mm erforderlich, die am 19., 23. und 29. Juni, sowie am 3., 10. und 24. Juli verabreicht wurden. Bei der Ernte am 10. August war das Laub der nicht bewässerten Stauden teilweise abgestorben, während das der bewässerten je nach Düngungsstufe noch mehr oder weniger grün war.

Nachstehende Zusammenstellung bringt die Erträge und den Prozentsatz fadenkeimiger Knollen von den bewässerten und nicht bewässerten Düngungsstufen. Was nun die verabreichte Düngermenge anlangt, betrug diese in Reinnährstoffen je Hektar bei N_1 P_1 K_1 80 kg N, 100 kg P_2O_5 und 150 kg K_2O, bei den anderen Stufen die doppelte bzw. dreifache Menge in verschiedener Kombination.

Tabelle 9

Ertrag und Fadenkeimigkeit, Bewässerungsversuch 1953/54

Düngung	Bewässert nach Anbot		Unbewässert	
	Ertrag dz/ha	fadenkeimige Knollen in %	Ertrag dz/ha	fadenkeimige Knollen in %
N_0 P_0 K_0	416	3,4	320	17,3
N_1 P_1 K_1	461	1,7	388	26,6
N_1 P_2 K_2	472	2,6	403	23,2
N_2 P_2 K_2	405	0,0	389	35,0
N_3 P_2 K_2	348	0,0	313	31,0

Die Wirkung der Bewässerung nach Anbot auf das Auftreten der Fadenkeimigkeit kommt im Prozentsatz der schwachtriebigen Knollen eindeutig zum Ausdruck. Der Anteil von Knollen mit abnormer Triebbildung ist auf den nicht bewässerten Teilstücken bei allen Düngungsstufen bedeutend höher als bei den bewässerten Versuchsgliedern. Das Ergebnis dieses Versuches entspricht vollkommen der Erwartung, wenn man als Ursache des Auftretens der Fadenkeimigkeit trocken-heiße Witterung annimmt. Es besteht kaum ein Zweifel darüber, daß durch die kontinuierliche Versorgung mit Wasser während der Trockenperiode eine übermäßige Erwärmung des Bodens sowie ein Wachstumsstillstand der Kartoffelpflanzen und das Auftreten der damit verbundenen Notreifeerscheinungen und Hitzeschäden wirksam verhindert wurden. Eine Bestätigung findet diese Annahme im Verhalten der Pflanzen auf den unbewässerten Teilstücken. Die Knollenbildung bei den Stauden dieser Versuchsglieder erfolgte teilweise während der Trokkenperiode. Ein beträchtlicher Anteil der Knollen erlitt Hitzeschäden, wie im Prozentsatz fadenkeimiger Knollen zum Ausdruck kommt. Praktisch ist das Ergebnis dieses Versuches für Gebiete mit Sommertrockenheit von Bedeutung. Es führt eindeutig vor Augen, daß die Bewässerung nach Anbot eine sichere Maßnahme zur Verhinderung des Auftretens der Fadenkeimigkeit darstellt. Es ist daher angezeigt, in Betrieben, die durch einmaliges Ver-

mehren von Originalsaatgut das Kartoffelpflanzgut für den Eigenbedarf selbst erzeugen und eine Beregnungsanlage besitzen, unbedingt diese Kartoffeln nach Anbot zu bewässern.

Bemerkenswert ist außerdem noch der unterschiedliche Prozentsatz fadenkeimiger Knollen auf den unbewässerten Teilstücken bei den einzelnen Düngungsstufen. Aus den angeführten Zahlen läßt sich deutlich ein Zusammenhang zwischen Stickstoffdüngung und Fadenkeimigkeit erkennen, und zwar in der Art, daß mit steigenden Stickstoffgaben, unabhängig vom Ertrag, auch der Prozentsatz fadenkeimiger Knollen ansteigt. Diese Tatsache steht wahrscheinlich mit dem länger anhaltenden Wachstum der mit Stickstoff gedüngten Pflanzen während der Trockenheit und der damit verbundenen länger anhaltenden Knollenbildung im Zusammenhang. Die Stauden auf den Stickstoffmangelparzellen reiften früher ab als die mit der einfachen Stickstoffgabe und diese wieder früher als jene mit der doppelten bzw. dreifachen Stickstoffmenge. Der relativ niedrige Prozentsatz an fadenkeimigen Knollen auf der ungedüngten Parzelle könnte somit durch den früheren Abschluß der Knollenbildung erklärt werden. In gleicher Weise läßt sich auch der unterschiedliche Anteil an schwachtriebigen Knollen bei den übrigen Düngungsstufen deuten. Hohe Stickstoffgaben können also beim Auftreten von Trockenperioden der Fadenkeimigkeit förderlich sein. Durch eine Bewässerung nach Anbot wird aber die begünstigende Wirkung hoher Stickstoffgaben für das Auftreten der Fadenkeimigkeit vollkommen ausgeschaltet, wie eindeutig im Ergebnis dieses Versuches zum Ausdruck kommt.

III. Zusammenfassung

Das Problem der Fadenkeimigkeit von Kartoffelknollen wurde in einer Reihe von Versuchen, durchgeführt in den Jahren 1949 bis 1954 mit verschiedenen Sorten, behandelt und die zahlenmäßig erfaßten Ergebnisse werden mitgeteilt. Es stand vor allem die Frage nach der Ursache des Auftretens der Schwachtriebigkeit im Vordergrund.

Durch eine mikroskopische Untersuchung von Augen fadenkeimiger und normaltriebiger Knollen konnte nachgewiesen werden, daß die Knospen in den Augen fadenkeimiger Knollen schwächer ausgebildet sind als bei Knollen mit normaldicken Keimen. Die Ergebnisse des Abbauversuches, durchgeführt im Jahre 1949 mit verschiedenen Sorten, und die des Zeitstufenversuches 1950, bei welchem zwei Sorten zu vier verschiedenen Anbauterminen ausgepflanzt wurden, lassen deutlich einen Zusammenhang zwischen Auftreten der Fadenkeimigkeit und trocken-heißer Witterung während der Knollenbildung erkennen. Zur versuchsmäßigen Behandlung der Frage des Zustandekommens der Fadenkeimigkeit erscheint ein Zeitstufenversuch in bester Weise geeignet. Durch einen zeitlich gestaffelten Anbau ist es möglich, die Knollenbildung in verschiedene Zeiträume während der Vegetationszeit zu verteilen. Auf diese Weise wird erreicht, daß die Knollenbildung der einen oder anderen Zeitstufe in eine eventuell auftretende Trocken-Hitzeperiode fällt.

Die Untersuchungen mit einjährigen Kartoffelsämlingen 1952 lassen ebenfalls eindeutig den Zusammenhang von trocken-heißer Witterung und Auftreten der Fadenkeimigkeit erkennen. Es konnten verschiedene Erscheinungsformen der Fadenkeimigkeit festgestellt werden. Im Ergebnis dieser Untersuchung kommt zum Ausdruck, daß die Eigenschaft „Neigung zu Fadenkeimigkeit" erblich bedingt und daher sortentypisch ist, denn von Sämlingen mit gleicher Entwicklungsstufe hat nur ein Teil fadenkeimige Knollen ausgebildet.

Bei einem Frühernteversuch im Jahre 1953 konnte der Einfluß trocken-heißer Witterung auf die Ausbildung fadenkeimiger Knollen neuerlich festgestellt werden. Weiter war der Nachweis möglich, daß Hitzeschäden in Form der Fadenkeimigkeit nur bei noch wachsenden Pflanzen, nicht aber bei abgestorbenen Stauden zu befürchten sind, auch wenn die Knollen noch einige Zeit höheren Temperaturen und Trockenheit im Boden ausgesetzt sind.

Im Ergebnis eines kombinierten Bewässerungs- und Düngungsversuches, durchgeführt 1953, zeigte sich, daß durch eine Bewässerung nach Anbot das Auftreten der Fadenkeimigkeit, gleichgültig bei welcher Düngung, wirksam verhindert werden kann. Auf unbewässerten Teilstücken des Versuches war unter den Witterungsverhältnissen des Jahres 1953 eine fördernde Wirkung für das Auftreten der Fadenkeimigkeit durch erhöhte Stickstoffdüngung nachweisbar.

Literaturverzeichnis

DEMEL, J. und WENZL, H., 1953: Die Sortenanfälligkeit der Kartoffeln gegen Fadenkeimigkeit. Bodenkultur, 142—151.

DYKSTRA, T. P., 1948: Production of diseasefree potatoes. Circ. 764, U.S. Dept. Agric.

FISHER, R. A., 1948: Statistical Methods for Research Workers, London.

KOLTERMANN, A., 1927: Die Keimung der Kartoffelknolle und ihre Beeinflussung durch Krankheiten. Angew. Bot., 289—339.

KOPETZ, L. M., 1953: Die Beregnung im Dienste des Pflanzenbaues. Bodenkultur, 199—207.

— —, 1954: Das Wesen der Beregnungsdüngung. Kalibriefe, 2. Folge, Fachgebiet 8, Dezember.

— —, 1954 a: Die Beregnungsdüngung. Int. Landmaschinenmarkt, Heft 11, 526—527.

— — und STEINECK, O., 1954: Photoperiodische Untersuchungen an Kartoffelsämlingen. Züchter, 69—77.

LYSSENKO, T. D., 1951: Agrobiologie. 328—335.

MAYA, R., 1953: Der Einfluß des Abkeimens auf den Pflanzgutwert der Saatkartoffeln. Diss., Hochschule für Bodenkultur, Wien, 51—54.

NORDEN, E., 1929: Untersuchungen über den Entwicklungsrhythmus von Kartoffelsorten verschiedener Reifezeit. Inaug. Diss. Landw. Hochschule Berlin.

SALZMANN, R., 1950: Die wichtigsten Krankheiten und Schädlinge der Kartoffel und ihre Bekämpfung. Bern 87—88.

SORAUER, P., 1933: Handbuch der Pflanzenkrankheiten, Bd. I, I. Teil. Paul Parey, Berlin.

STEINECK, O., 1952: Untersuchungen an „durchwachsenen" Kartoffelknollen. Pflanzenschutzber. IX, Heft 5/6, 80—99.

VERHOEVEN, W. B. L., 1949: Ziekten, Selectie en Keuring van aardappelen. Wageningen, 101—102.

WENZL, H., 1950: Zur Frage des nichtvirösen Kartoffelabbaues. Bodenkultur, 152—160.

— — und DEMEL, J., 1952: Untersuchungen über den Pflanzgutwert fadenkeimiger Kartoffelknollen. Bodenkultur, 41—54.

ZOGG, H., HORBER, E. und SALZMANN, K., 1949: Pflanzenschutz. Landw. Jb. d. Schweiz, 63, 385.

Aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für landwirtschaftliche Virusforschung und Institut für Virusserologie, Braunschweig-Gliesmarode

Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die viröse Vergilbungskrankheit der Rübe (beet yellows)

Von

J. Brandes und K. Zimmer

Mit 3 Abbildungen

Forschungsergebnisse der letzten Jahre deuten darauf hin, daß allen Viruspartikeln eine charakteristische Größe und Gestalt zuzuordnen ist (z. B. Bode und Paul, 1955; Wetter und Brandes, 1955; Williams und Steere, 1951). Daher kann es bei manchen Viruserkrankungen vorteilhaft sein, das Elektronenmikroskop (EM) zur Diagnose heranzuziehen. Gerade bei solchen Virosen, bei denen andere Nachweismethoden zu einer sicheren Bestimmung noch nicht ausreichen, wie z. B. bei der Vergilbungskrankheit der Rübe, kann unter Umständen das EM gute Dienste leisten.

Die Vergilbungskrankheit der Rübe wurde elektronenmikroskopisch bislang allerdings nur wenig untersucht. Leyon (1951) fand in Preßsäften kranker Rüben und in Präzipitaten, die sich bei Mischung des Saftes kranker Pflanzen von *Chenopodium foliosum* mit Vergilbungs-Antiserum bildeten, fadenförmige Teilchen mit einer Länge bis zu 1 μ. Auch Bawden (1953, 1954), Bawden und Nixon (1951) und Nixon und Watson (1951) konnten gelegentlich in Säften kranker Rüben fädige Partikeln mit Hilfe des EM feststellen. Da ihnen das jedoch nicht immer gelang, wiesen sie auf die Möglichkeit hin, daß eventuell ein kugelförmiges Virus an der Rübenvergilbung beteiligt sei, zumal die körnige Ausflockung der Präzipitate darauf hindeutete. Nach ihren Angaben könnte daher die viröse Rübenvergilbung vielleicht von verschiedenen Viren verursacht werden.

Wir benutzten mittels *Myzus persicae* im Keimlingsstadium infizierte Pflanzen folgender Arten: Zuckerrübe, Sorte Kleinwanzlebener E; *Tetragonia expansa* Murr. (Neuseeländer Spinat); *T. echinata* Ait.; *Chenopodium album* L.; *Ch. quinoa* L. (Reismelde); *Mesembryanthemum crystallinum* L.[1]).

[1]) Über bisher nicht beschriebene Wirtspflanzen des Yellows-Virus wird aus dem Institut für Virusserologie berichtet werden.

Das von uns verwendete Yellows-Isolat erzeugt auf Primärblättern von Rüben Adernaufhellungen mit nachfolgender Adernnekrose und an den Blattspitzen der Folgeblätter dunkle Punkte. Bei den genannten anderen Wirtspflanzen zeigten sich Adernaufhellungen an allen Blättern. Symptomtragende Blätter wurden nach der Methode von JOHNSON (1951) exsudiert. Die Präparate wurden mit Platin-Iridium schräg bedampft und mit einem

Abb. 1. Teilchen aus einem Exsudat von *Tetragonia expansa*. 40 000×

elektrostatischen EM vom Typ EM 8/2 (AEG/Zeiss) untersucht. Die Aufnahmen wurden bei einer Originalvergrößerung von 5397 × gemacht und durch Projektion auf eine Gesamtvergrößerung von etwa 300 000 × gebracht. Da die Teilchen häufig unregelmäßige Verbiegungen aufweisen, wurde ihre Länge mit einem Kurvenmesser ermittelt. Die Längenbestimmung hat einen Fehler von höchstens 5 %.

In Exsudaten kranker Blätter fanden wir stets lange Fäden (Abb. 1). Ihr Durchmesser wurde nicht genau bestimmt; er scheint geringer als 10 mμ zu

sein. In Exsudaten gesunder Blätter wurden derartige Teilchen nicht gefunden. Abb. 2 a zeigt die Längenverteilung der Partikeln aus exsudierten Zucker-

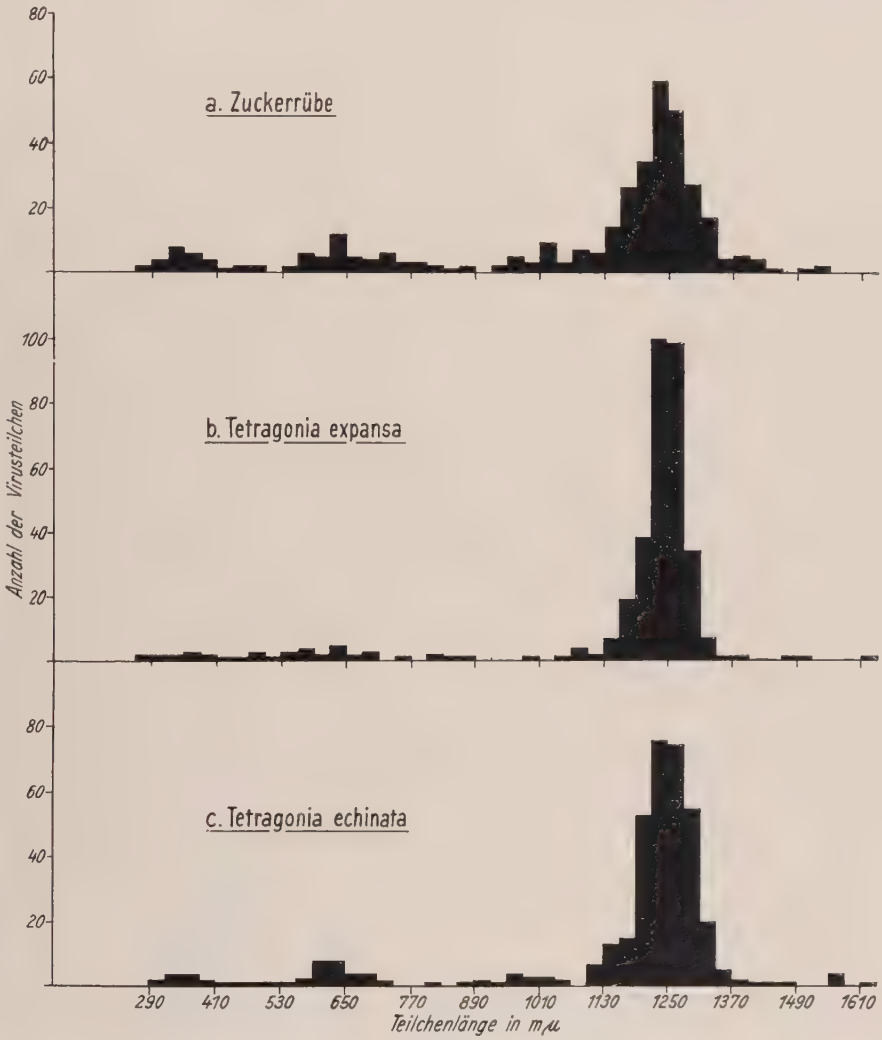


Abb. 2

rübenblättern. Die Klassenbreite des Treppenpolygons beträgt 30 mμ. 56 % aller Teilchen häufen sich im Bereich von 1160 bis 1340 mμ, für den sich ein Mittelwert von etwa 1250 mμ ergibt (Normallänge). Daneben finden sich noch Maxima bei etwa 625 mμ (halbe Normallänge) und 310 mμ (Viertellänge), sowie bei 2500 mμ (Doppellänge), jedoch mit wesentlich geringerer Teilchenzahl[2]).

[2]) Aus drucktechnischen Gründen wurde auf die Darstellung der Doppellängen verzichtet.

Ähnliche Längenverteilungen ergaben sich bei der Vermessung der fädigen Partikeln aus Exsudaten von *Tetragonia expansa* (Abb. 2 b) und *Tetragonia echinata* (Abb. 2 c). Die wesentlichen Meßergebnisse sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

Tabelle 1

	Anzahl der vermessenen Teilchen	Anzahl der Teilchen von 1160 bis 1340 mμ	Anteil der Teilchen von 1160 bis 1340 mμ	Mittlere Länge der Teilchen im Bereich von 1160 bis 1340 mμ
Zuckerrübe	379	213	56,0 %	1245 mμ
Tetragonia expansa .	365	297	81,4 %	1246 mμ
Tetragonia echinata .	406	294	72,3 %	1251 mμ
gesamt	1150	804	69,6 %	1248 mμ

Aus der Untersuchung kranker Pflanzen von *Chenopodium album, Ch. quinoa* und *Mesembryanthemum crystallinum* kann mit großer Wahrscheinlichkeit vermutet werden, daß in diesen Pflanzen die gleichen Teilchen vorhanden sind.

Die Maxima der Polygone in Abb. 2 fallen in den gleichen Längenbereich. Deshalb erschien es uns zulässig, alle vermessenen Teilchen der drei Arten in einem Gesamtpolygon zusammenzufassen (Abb. 3).

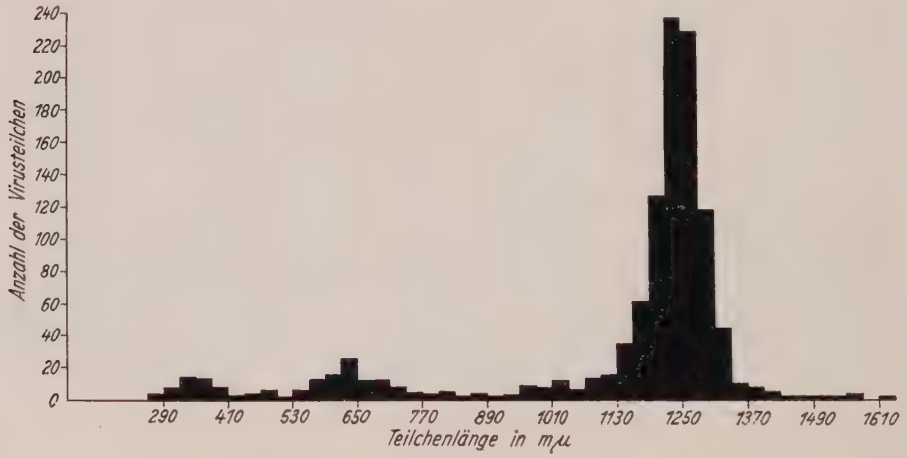


Abb. 3

Da wir die fadenförmigen Partikeln in Exsudaten kranker Pflanzen stets, in gesunden Pflanzen dagegen nie fanden, scheint es uns sicher zu sein, daß sie die Teilchen des von uns verwendeten Yellows-Isolats darstellen. Diese Ansicht wird auch durch die Ergebnisse von LEYON (1951) unterstützt, der morphologisch ähnliche Teilchen abbildete. Die „Normallänge" (etwa 1250 mμ) ist beträchtlich länger als bei anderen bisher untersuchten Viren und kann deshalb leicht festgestellt werden. Das untersuchte Yellows-Isolat

läßt sich also mit Hilfe des EM verhältnismäßig einfach und sicher diagnostizieren. Wie die Angaben der englischen Autoren vermuten lassen, können mehrere Viren bei der Rübenvergilbung beteiligt sein. Es ist also nicht ausgeschlossen, daß bei der elektronenmikroskopischen Untersuchung von vergilbungskranken Rüben noch Teilchen anderer Form oder Größe gefunden werden.

Zusammenfassung

Mit einem Virusisolat aus vergilbungskranken Rüben wurden Zuckerrüben und andere Pflanzen künstlich infiziert. Bei der elektronenmikroskopischen Untersuchung von Exsudaten dieser Pflanzen wurden spezifische Teilchen gefunden und vermessen. 69,6 % dieser Partikeln besaßen eine Länge von 1160 bis 1340 mμ, aus der sich ein Mittelwert von etwa 1250 mμ ergibt.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft und Herrn Regierungsrat Dr. Bercks sei an dieser Stelle für ihre Unterstützung herzlich gedankt.

Literaturverzeichnis

1. Bawden, F. C., 1953: Rothamsted Exp. Stat., Harpenden, Rept. 1952, 83.
2. — —, 1954: Rothamsted Exp. Stat., Harpenden, Rept. 1953, 88.
3. — —, and Nixon, H. L., 1951: The application of electron microscopy to the study of plant viruses in unpurified plant extracts. J. Gen. Microbiol. **5**, 104—109.
4. Bode O., und Paul, H. L., 1955: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über Kartoffelviren. 1. Vermessungen an Teilchen des Kartoffel-X-Virus. Biochim. Biophys. Acta **16**, 343—345.
5. Johnson, J., 1951: Virus particles in various plant species and tissues. Phytopathology **41**, 78—93.
6. Leyon, H., 1951: Sugar beet yellows virus. Some electron microscopical observations. Arkiv Kemi, Stockh., **3**, 105—109.
7. Nixon, H. L., and Watson, M. A., 1951: Beet yellows Virus. Nature **168**, 523—524.
8. Wetter, C., und Brandes, J., 1955: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über Gestalt und Größe des Kartoffel-S-Virus. Naturwiss. **42**, 100—101.
9. Williams, R. C., and Steere, R. L., 1951: Electron microscopic observations on the unit length of the particles of tobacco mosaic virus. J. Amer. Chem. Soc. **73**, 2057—2061.

Aus dem Botanischen Institut der Universität Basel
Leiter: Prof. Dr. M. Geiger-Huber

Versuche über die quantitative Bestimmung der ß-Indolylessigsäure (Heteroauxin) und ihre Lokalisierung im Gewebe der Pflanze

Von

Victor Alexander Ebert

Mit 20 Abbildungen

Inhalt: Einleitung. — I. Quantitative Bestimmung des Heteroauxins (IES). A. Übersicht über die Methoden zur Bestimmung der IES. B. Die fluorometrische Bestimmung des Heteroauxins. C. Versuche über die IES-Aufnahme durch Hypokotyle von *Cucumis*. — II. Lokalisierung des aufgenommenen Heteroauxins im Gewebe der Pflanze. A. Die verwendeten Reaktionen. Histochemische Nachweisreaktionen für IES. Nachweis anderer Indolkörper. Methodisches zum Nachweis der IES in Gewebeschnitten. Methodisches zum Nachweis der IES in ganzen Pflanzen. B. Ergebnisse der histochemischen Untersuchung. Der Unterschied in der IES-Speicherung zwischen Wurzel und Sproß. Stellen bevorzugter IES-Speicherung in der Wurzel. Beobachtungen über Permeiergeschwindigkeit und Anreicherung der IES in der Wurzel. Die Aufnahme anderer Wuchsstoffe durch die Wurzel. Die IES-Speicherung durch den Sproß. — Zusammenfassung. — Literaturverzeichnis.

Einleitung

Diese Arbeit soll mithelfen, in einer wichtigen Frage der Wuchsstoff-Forschung einen Schritt vorwärts zu tun, nämlich in der Frage der Aufnahme von β-Indolylessigsäure (IES) durch die Pflanze.

Dieses Ziel soll auf zwei Wegen erstrebt werden:

1. durch Verbesserung der Methoden zur quantitativen Messung der Aufnahme der IES aus Lösungen,
2. durch Lokalisierung der aufgenommenen IES im pflanzlichen Gewebe.

Daß die Pflanze IES aufnimmt, erscheint gesichert nach den Untersuchungen von Thimann und Bonner (1932, 1933) über die Aufnahme von IES aus Agar durch die *Avena*-Koleoptile, von Skoog (1938) über IES-Aufnahme durch die Tomatenwurzel aus wäßriger Lösung und von Albaum, Kaiser und Nestler (1937) über IES-Aufnahme durch *Nitella* aus wäßriger Lösung; Sutter (1944) und Huber (1951) konnten die Bedingungen der

Aufnahme von IES aus wässeriger Lösung durch *Cucumis*-Hypokotyle genau definieren.

Über das Vorhandensein der IES nach der Aufnahme in der Pflanze aber gehen die Meinungen auseinander. Dettweiler (1942) und v. Guttenberg (1949) behaupten, die IES könne in der Pflanze nicht mehr nachgewiesen werden. Ihre Behauptung wurde durch die Arbeiten von Sutter (1944, S. 232) und Huber (1951, S. 527) in Frage gestellt. Diese beiden Autoren versuchten, die IES durch Äther-Extraktion aus den behandelten Pflanzen wieder herauszuholen. Sie beobachteten in diesem Extrakt verschiedene Farbreaktionen, die auf das Vorhandensein von IES schließen ließen und die bei nicht behandelten Pflanzen ausblieben. Beide Autoren konnten den Nachweis allerdings nicht quantitativ führen, da die Reaktionen durch Begleitstoffe im Extrakt gestört wurden. Immerhin konnte Huber feststellen, daß mindestens so viel IES in die Pflanze eingedrungen war, um mit seiner Methode eine Rotfärbung im Extrakt zu ergeben, und daß in unbehandelten Pflanzen weniger IES vorhanden ist, als seine Reaktion nachzuweisen gestattet.

Es darf also behauptet werden: IES wird durch die Pflanze aufgenommen und kann mit ziemlicher Sicherheit aus ihr wieder extrahiert und im Extrakt nachgewiesen werden. Dafür aber, daß die IES in irgendwelchen pflanzlichen Geweben gespeichert wird, ist noch kein histochemischer Beweis vorhanden.

I. Quantitative Bestimmung des Heteroauxins (IES)

A. Übersicht über die Methoden zur Bestimmung der IES

Es existiert eine größere Anzahl Methoden zum Nachweis der IES, von denen die wichtigsten hier folgen. Einige davon sind zur quantitativen Bestimmung ausgearbeitet.

Reaktionen mit oxydationsmittelhaltigen Reagenzien:

a) Salzsäure und Eisenchlorid. Salkowski (1885), Winkler und Petersen (1935), Lefèvre (1938), Berthelot, Amoureux und Deberque (1939), Mitchell und Brunstetter (1939), Zyunki Tanaka (1940), Hamence (1943 II), Algeus (1946), Wildman und Bonner (1948), Bonner (1950, S. 443), Huber (1951).
Modifikationen: Zusatz von Trichloressigsäure Stoppani (1945); statt Salzsäure Schwefelsäure Yu Wei Tang und Bonner (1947); statt Salzsäure Essigsäure Keller (1896), Stoll, Hofmann und Petrzilka (1946).

b) Salpetersäure und Nitrit. Salkowski (1883, 1885), Winkler und Petersen (1935).
Modifikationen: statt Salpetersäure Schwefelsäure Molisch (1921, S. 237), Lefèvre (1938); statt Salpetersäure Salzsäure Weiss (1947),

LINSER (1952); mit Salzsäure, Nitrit und Harnstoff HOLT und CALLOW (1943).

c) Andere Oxydantien. Perchlorsäure HAMENCE (1943 II), als Reaktion auf Tryptophan GORDON und MITCHELL (1949), TAUBER (1952); Chlorkalk SALKOWSKI (1885); Selendioxyd MONTIGNIE (1932); verschiedene Oxydationsmittel HOMER (1915, spektroskopische Daten über verschiedene Indolderivate).
Anmerkung: bei HOMER auch Anwendung von Salzsäure allein, s. ARNOLD (1911), ABDERHALDEN (1946, S. 192).

Reaktionen mit Aldehyden:

a) EHRLICHsche Reaktion mit p-Dimethylaminobenzaldehyd und Salzsäure. GLICK (1949, S. 74, Angaben über störende Stoffe), LEFÈVRE (1938).
Modifikationen: statt Salzsäure Schwefelsäure VAN URK (1929); Phosphorsäure HIEKE (1942/43), MORTON (1946, S. 68 und 106); Zusatz von Oxydationsmitteln SALKOWSKI (1919), GARCIA und ROYO (1943), ALGEUS (1946); Anwendung auf Tryptophan SCHMID (1949), SPIES (1950).

b) Formaldehyd und Schwefelsäure. MASAYAMA und ITAGAKI (1941).

c) Glyoxylsäure und Schwefelsäure. WINKLER (1934), WINKLER und PETERSEN (1935), SUTTER (1944), MORTON (1946, S. 115 und 118).

Andere Reaktionen:

a) LEGALsche Reaktion mit Nitroprussidnatrium. SALKOWSKI (1883).

b) Oxalsäure. GNEZDA (1899).

c) Vanillin. WEEHUIZEN (1911).

d) Diazotierung, Indopheninreaktion, Nitrosaminoreaktion. LISON (1936, S. 160 bis 162).

e) Methylalkohol und Salzsäure. GRISOLIA (1943).

f) Schwefelsäure (Fluoreszenzreaktion). HAMENCE (1943 I).

B. Die fluorometrische Bestimmung des Heteroauxins

Die Wahl einer Fluoreszenzmethode zur Bestimmung der IES erfolgte in der Hoffnung, eine chemisch-physikalische Bestimmungsmethode zu finden, die wesentlich empfindlicher ist als die bisher bekannten. Die hohe Empfindlichkeit der Pflanzen auf Auxine macht dies notwendig, denn nur dann wird es möglich, quantitative Untersuchungen über die Aufnahme von Heteroauxin in Konzentrationsbereichen vorzunehmen, die einigermaßen physiologisch sind.

Die Aussicht hierfür schien nicht ungünstig, denn STRUGGER (1949, S. 11) betont die Überlegenheit der Fluoreszenzanalyse über die kolorimetrische und gibt unter anderem folgendes Beispiel an: Während der Farb-

stoff Lichtgrün in Wasser durch seine Eigenfarbe nur bis zu einer Verdünnung von $1 : 10^5$ erkannt werden kann, ist die grüne Fluoreszenzfarbe von oxypyrentrisulfosaurem Natrium noch bei einer Verdünnung von $1 : 10^8$ zu erkennen. Nach HAITINGER (1937, S. 155) kann die Fluoreszenz von Chinin noch bei einer Verdünnung von $1 : 10^8$, diejenige von Uranin bei $1 : 10^{10}$, die von Fluoreszeïn und von Rhodamin B in Verdünnungen der Größenordnung $1 : 10^{12}$ erkannt werden.

In ihrer ausführlichen Arbeit über die IES-Bestimmung gelang es SUTTER (1944), im Reihenversuch IES noch in einer Verdünnung von $1 : 2{,}5 \cdot 10^5$ kolorimetrisch nachzuweisen. Andererseits gelingt der biologische Nachweis von IES im Avenatest bis zu Verdünnungen $1 : 2 \cdot 10^8$ (SÖDING 1952, S. 8). Bekanntlich ist aber die Genauigkeit des biologischen Auxintests klein, gelegentlich ist er auch unzuverlässig, so daß diese Methode trotz ihrer hohen Empfindlichkeit für manche Untersuchungen doch nicht geeignet ist. Außerdem läßt sich im Gegensatz zum relativ umständlichen biologischen Test die Fluoreszenzanalyse mit geeigneten Einrichtungen genau, sicher und rasch durchführen.

Die Aufgabe bestand darin, IES, die in den benötigten Verdünnungen selbst nicht fluoresziert, in einen fluoreszierenden Stoff umzuwandeln und dessen Fluoreszenzlicht photoelektrisch zu messen. Die Spezifität der Messung kann dabei durch Verwendung von Filtern, die auf das Fluoreszenzlicht abgestimmt sind, erhöht werden. Die Fluoreszenz wird durch Belichtung mit Ultraviolett (UV) erzeugt.

Der Meßvorgang selbst beruht entweder auf einer Bestimmung der relativen Fluoreszenzintensität durch Vergleich mit Standardflüssigkeiten bekannter Fluoreszenz (Kompensationsmethode) oder auf einer Messung der absoluten Fluoreszenzintensität (Absolutmethode). Bei der Kompensationsmethode werden gewöhnlich als Standardflüssigkeiten leicht herstellbare Lösungen fluoreszierender Stoffe verwendet, z. B. Chininsulfat für blaue und Fluoreszeïn für grüngelbe Fluoreszenz. In unserem Institut machte man aber immer wieder die Erfahrung, daß die Stabilität dieser Lösungen ungenügend ist. Ich ging deshalb dazu über, beim Messen von Konzentrationsreihen als Standardlösung für die Bezugsfluoreszenz 100 die höchste IES-Konzentration zu verwenden, so daß alle anderen Fluoreszenzintensitäten dann als Verhältniszahlen zu dieser Konzentration erhalten werden. Die so erhaltenen Kurven zeigten recht gute Übereinstimmung. Als sich jedoch gerade diese hohen IES-Konzentrationen als besonders UV-empfindlich erwiesen und deshalb beim mehrmaligen Nachkontrollieren des Bezugswerts ebenfalls nicht genügend Stabilität besaßen, wurde die Kompensationsmethode aufgegeben.

Die Absolutmethode ist mit dem Nachteil behaftet, daß sich Spannungsschwankungen der Stromquelle für die Lampe auf die Meßwerte auswirken. Um diese Störung zu vermeiden, wurde dem Fluoreszenz-Meßgerät[1]) ein speziell angeglichener Spannungsstabilisator, der Schwankungen

[1]) Lumetron Colorimeter Modell 402 E der Photovolt Corporation, Madison Avenue 95, New York.

des elektrischen Stadtnetzes ausglich, vorgeschaltet. Berechnungen zeigten denn auch, daß die Streuung der Einzelwerte bei der Absolutmethode geringer war als bei der verwendeten Kompensationsmethode; deshalb wurden die endgültigen Messungen nur noch nach dieser Methode durchgeführt.

Die Werte der Fluoreszenzintensität sind hierbei immer in Skalenteilen (SKT) des Potentiometers angegeben und nicht in Lichtstärken. Die verwendeten Meßkuvetten machten 17 bis 20 cc Meßflüssigkeit notwendig, die sich zusammensetzen aus 10 bis 12 cc IES-haltiger Bestimmungslösung und 7 bis 10 cc Reagenzien. Die Konzentrationsangaben beziehen sich immer auf das Volumen der Meßflüssigkeit.

Für die Ausarbeitung der fluorometrischen Methode wurde von der von HAMENCE (1943 I) beschriebenen Reaktion ausgegangen, wonach IES, in Pulverform mit konzentrierter Schwefelsäure erhitzt, eine gelbgrüne Fluoreszenz zeigt. Alle anderen auf Fluoreszenz geprüften IES-Reaktionen ergaben negative Resultate.

Die spezielle Aufgabe bestand darin, die Anpassung dieser Reaktion an stark verdünnte Lösungen der IES vorzunehmen, was auch gelang. Wenn man nämlich zu einer wäßrigen IES-Lösung[1]) (Konzentrationsbereich 1 bis 15 γ/cc) konzentrierte Schwefelsäure in geeigneter Weise zugibt, gut durchmischt und das Gemisch in einem kochenden Wasserbad rund 15 Minuten erhitzt, so zeigt sich bei Belichtung mit UV eine blaugrüne bis grüngelbe Fluoreszenz, deren Farbe und Intensität von der Konzentration der IES und den Versuchsbedingungen abhängen. Die verwendete reine Schwefelsäure weist selbst nur eine schwache hellblaue Fluoreszenz auf.

Die Fluoreszenz wird durch folgende Faktoren beeinflußt:

Die Schwefelsäuremenge, die zur Erzeugung einer maximalen Fluoreszenzintensität notwendig ist, weist ein Optimum auf, das je nach der Art der verwendeten Säure zwischen 5 und 8 cc liegt (bei einer Versuchs-

Tabelle 1

Änderung der Fluoreszenzintensität durch Zusatz von Metallsalzlösungen

Zu 10 cc IES-Lösung 2 cc Metallsalzlösung zugegeben, dann, wie gewohnt, mit Schwefelsäure versetzt. Änderung der Fluoreszenzintensität angegeben in % der ohne Salzzusatz zustande kommenden Fluoreszenz

m/10	$KCr(SO_4)_2$	— 45 %	m/20	$ZnCl_2$	— 50 %
	$NiSO_4$	— 20 %		ZnJ_2	— 100 %
	$CoSO_4$	— 20 %		$ZnSO_4$	± 0 %
	$CoCl_2$	— 30 %		$CdSO_4$	± 0 %
	$KMnO_4$	— 100 %		$MgSO_4$	± 0 %
	$CuSO_4$	+ 75 %		$MnSO_4$	± 0 %
	Cu-azetat	+ 100 %		$Cr_2(SO_4)_3$	— 20 %
m/15	$Hg(NO_3)_2$	— 70 %		$CuSO_4$	+ 150 %

lösung von 12 cc). Dieses Optimum ist von der Konzentration der IES im Bereich zwischen 0 und 15 γ/cc weitgehend unabhängig und zudem flach, was

[1]) Es wurde für alle Untersuchungen Indolyl-3-essigsäure der Firma F. Hoffmann-La Roche & Co. A. G., Basel, verwendet.

ermöglicht, größere Konzentrationsreihen mit einer Säuremenge zu behandeln; auch beeinflussen Verschiedenheiten der Säuremenge, wie sie durch Temperaturschwankungen während dem Abmessen der Säure bewirkt werden können, die Resultate nur unbedeutend.

Sehr starken Einfluß auf die Fluoreszenz hat die Qualität der verwendeten Schwefelsäure. In geringsten Spuren vorliegende Verunreinigungen unbekannter Natur können die Fluoreszenz vollständig unmöglich machen; dies wurde von Gordon und Mitchell (1949) bei ihrer Fluoreszenzreaktion auf Tryptophan auch für Perchlorsäure konstatiert (Abb. 1).

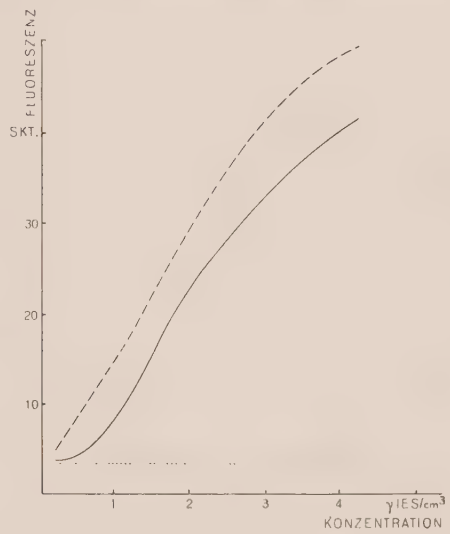


Abb. 1. Einfluß der Säurequalität auf die Intensität der Fluoreszenz
– – – – – H_2SO_4 conc. ad analysi d = 1,84
H_2SO_4 conc. chem. rein d = 1,84
..... H_2SO_4 conc. „chem. rein" d = 1,84 (verunreinigt)

Nach Danckwortt (1940, S. 85) ist es bekannt, daß Zink-, Cadmium- und Magnesiumsalze in manchen Fällen fluoreszenzsteigernd wirken. In der Hoffnung, durch Metallsalzzusatz eine Steigerung der Fluoreszenzintensität zu erreichen, wurden die Wirkungen der in Tabelle 1 erwähnten Zusätze geprüft, wobei Salze mit Eigenfluoreszenz unberücksichtigt blieben. Die meisten farblosen Salze zeigen keine Beeinflussung der Fluoreszenz; die farbigen, mit Ausnahme der Kupfersalze, bewirken eine Verminderung, die Kupfersalze dagegen eine starke Erhöhung der Fluoreszenz (Abb. 2). Durch Zusatz von Kupfersalzen kann also die untere Grenze der IES-Bestimmung stark heruntergesetzt werden; zusätzlich nimmt aber auch die Genauigkeit und Reproduzierbarkeit der Werte zu. Von diesen Tatsachen wurde bei der Ausarbeitung der Arbeitsvorschrift Gebrauch gemacht. Für die Kupfersulfatmenge besteht ein Optimum von 2 cc der m/20-Lösung auf 10 cc IES-Lösung.

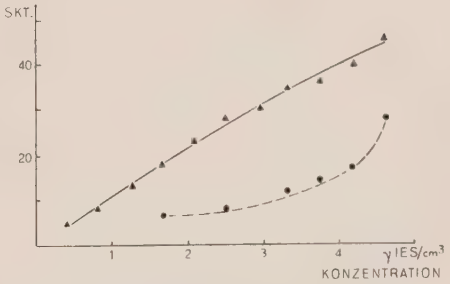


Abb. 2. Einfluß von $CuSO_4$ auf die Fluoreszenz
· – · – · mit 2 cc m/20 $CuSO_4$-Lösung
· – – – · ohne $CuSO_4$-Lösung

Da die hier verwendeten Konzentrationen an Metallsalzen etwa 1000mal größer sind, als sie in Nährlösungen normalerweise vorkommen, wirkt sich deren Metallionengehalt auf die Fluoreszenzintensität nicht aus. Nitrationen hingegen, die nach Sutter (1944, S. 217) die kolorimetrische Bestimmung mit Glyoxylsäure-Schwefelsäure empfindlich stören, beeinflussen

auch die fluorometrische Bestimmungsmethode. Diese ist allerdings gegen Nitrationen etwa fünfmal weniger empfindlich als die SUTTERsche Reaktion; Mengen von mehr als 1 mg Calciumnitrat im Bestimmungsgemisch stören die Reaktion aber stark. PFEFFER-ROBBINS-Nährlösung muß demnach etwa auf das Zehnfache verdünnt werden. Dies hindert nicht, IES-Lösungen, in die Pflanzenteile eingelegt werden und deren IES-Gehalt nachher fluorometrisch bestimmt werden soll, mit dieser Nährlösung zuzubereiten. Die Einlegeflüssigkeit muß nämlich, wie später noch gezeigt werden wird, auf jeden Fall zehnmal verdünnt werden, um den zur Messung günstigen IES-Gehalt zu erreichen. Stark zuckerhaltige Nährlösungen hingegen, wie z. B. diejenigen nach BONNER-ADDICOTT, machen die direkte fluorometrische IES-Bestimmung unmöglich, da der Zucker durch die Schwefelsäure verkohlt wird.

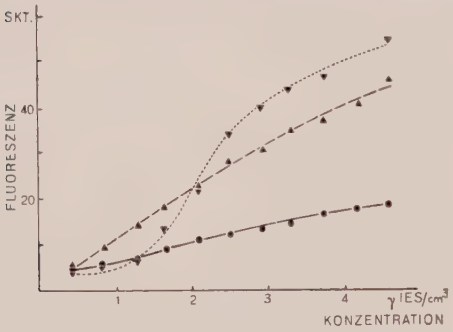


Abb. 3. Einfluß des Erwärmens auf die Intensität der Reaktion
·····▾ sofort gekühlt
▲——▲ 5 Minuten im kochenden Wasserbad erwärmt
· · · 15 Minuten im kochenden Wasserbad erwärmt

Bei der Säurezugabe tritt eine kräftige Erwärmung auf. Da diese nicht immer gleich ist, erscheint es schon zur Konstanthaltung der Versuchsbedingungen angezeigt, das Gemisch so lange zu erwärmen, bis alle Proben die gleiche Temperatur erreicht haben. Es zeigt sich aber auch, daß bei niederen Konzentrationen (unter 2 γ/cc) eine zusätzliche Erwärmung des Versuchsgemisches notwendig ist, damit überhaupt eine Fluoreszenz zustande kommt. Andererseits wird die Fluoreszenz höherer Konzentrationen durch die gleiche Erwärmung beeinträchtigt, denn in diesem Gebiet ist die Fluoreszenz wärmeempfindlich, und bei Kühlung resultieren höhere Werte. Da alle Erscheinungen, die die Erfassung niedrigerer Konzentrationen erleichtern, gemäß unserer Zielsetzung für uns wichtig sind, wird die Reaktion unter fünf Minuten dauerndem Erwärmen im kochenden Wasserbad durchgeführt (Abb. 3).

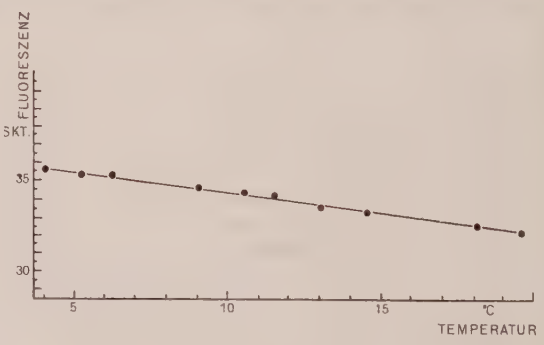


Abb. 4. Einfluß der Meßtemperatur auf die Fluoreszenz
Konzentration 2,9 γ IES/cc

Die Temperatur übt nicht nur auf das Zustandekommen der Fluoreszenz einen Einfluß aus, sondern auch auf ihre Intensität. Temperaturerhöhung kann allgemein die Fluoreszenz von Lösungen schwächen, verstärken oder unverändert lassen. Eine Steigerung der Fluoreszenz

bei Abkühlung unter Zimmertemperatur ist die häufigste Erscheinung, und sie ist auch bei der hier besprochenen Fluoreszenz zu beobachten (Abb. 4). Die Verstärkung der Fluoreszenz beträgt im Konzentrationsgebiet zwischen 0 und 12,5 γ IES/cc etwa 1 % je 1 ° C Abkühlung (bei Temperaturen zwischen + 4 und + 20 ° C). Die Verstärkung ist bei Wiedererwärmung weitgehend reversibel. — Eine praktische Bedeutung hat diese Fluoreszenzverstärkung nicht. Zur Tiefersetzung der Erkennungsgrenze läßt sie sich nicht verwenden, da die Tendenz der abgekühlten Lösung zur Wiedererwärmung auf Zimmertemperatur während des Meßvorgangs nur einen zusätzlichen Unsicherheitsfaktor in die Messung einführt. Es ist aber wichtig, daß alle Proben die gleiche Temperatur aufweisen, wenn sie zur Messung kommen, was erreicht wird, wenn sie vor der Messung einige Zeit im Versuchsraum stehengelassen werden. Die Temperaturschwankungen im Instrument sind im Lauf der Messung unbedeutend, so daß durch sie kein wesentlicher Einfluß auf die Resultate ausgeübt wird.

Längeres Kochen des Fluoreszenzgemisches über der offenen Flamme zerstört die Fluoreszenz.

Brunnenwasser als Lösungsmittel für die IES kann die Intensität der Fluoreszenz durch Kupfersalz-Ausfällung etwas vermindern, ebenso Zitronensäure-Phosphorsäurepuffer. In beiden Fällen genügt aber ein leichtes Ansäuern der Kupfersulfatlösung, um die Störung zu vermeiden.

Über den Einfluß von Luft, Licht und Ultraviolett ist folgendes zu sagen: Fluoreszierende Versuchslösungen mit einem IES-Gehalt von 2 bis 4 γ/cc, die 24 Stunden offen stehengelassen wurden und dabei etwa 14 Stunden am diffusen Tageslicht standen, erlitten eine Fluoreszenzverminderung von 50 %. Die Fluoreszenz von im Dunkeln aufbewahrten Proben blieb unverändert. Für die kurze Zeit, während der die Proben beim Messen dem Licht ausgesetzt sind, sind keine großen Schädigungen zu erwarten. Es empfiehlt sich, die Proben mit einem schwarzen Tuch zuzudecken und immer darauf zu achten, daß alle Lösungen, die miteinander verglichen werden sollen, gleich lang aufbewahrt werden. UV-Licht zerstört bei längerer Einwirkung die Fluoreszenz. Einwirkungszeiten, wie sie bei den einzelnen Messungen vorkommen, üben keinen Einfluß aus. Merklich wird die Schwächung aber bei wiederholten Messungen, z. B. an Standardlösungen. Wie schon erwähnt, ist dies der Grund, warum die Fluoreszenzmessung nach der Kompensationsmethode aufgegeben wurde.

Aus den gewonnenen Ergebnissen geht die folgende Arbeitsvorschrift für die fluorometrische quantitative Bestimmung von IES in wässerigen Lösungen hervor:

Zu 10 cc wässeriger IES-Lösung in einer Konzentration von 0,2 bis 12,5 γ IES/cc gibt man 2 cc m/20 Kupfersulfatlösung und läßt dann aus einer Bürette 5 cc konzentrierte Schwefelsäure (ad analysi, d = 1,83 bis 1,84) so einlaufen, daß eine gute Durchmischung stattfindet. Das Gemisch wird während fünf Minuten in einem siedenden Wasserbad erhitzt, nachher fünf

Minuten unter laufendem Wasser gekühlt, und dann bis zur Erreichung der Zimmertemperatur im Dunkeln stehengelassen. Messung der Intensität der Fluoreszenz, die durch Belichtung mit UV-Licht entsteht, photoelektrisch in einem geeigneten Fluoreszenzometer, wobei das emittierte Fluoreszenzlicht durch Sekundärfilter filtriert wird.

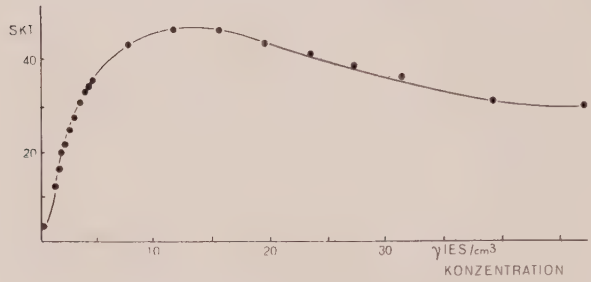


Abb. 5. Konzentrationslöschung der Fluoreszenz

Die Reaktion gibt sich durch eine Rotfärbung der Lösungen zu erkennen, deren Fluoreszenzfarbe bei niedrigeren Konzentrationen grün, bei höheren gelbgrün ist.

Die Grenzen, innerhalb derer die Reaktion gut durchgeführt werden kann, sind 0,2 γ und 12,5 γ IES/cc. Geringere Konzentrationen als 0,2 γ/cc, d. h. größere Verdünnungen als $1 : 5 \cdot 10^6$, können nicht erkannt werden, da unterhalb dieser Konzentration die Fluoreszenz in Farbe und Intensität gleich wird wie diejenige der Reagenzien. Oberhalb von 12,5 γ/cc tritt das Phänomen der Konzentrationslöschung (FÖRSTER 1951) auf, das die Messung unmöglich macht (Abb. 5).

Die Messungen erfolgen mit Vorteil im Bereich zwischen 0,8 und 3,8 γ/cc, wo die Streuung am geringsten ist und für den auch eine Eichkurve aufgestellt werden kann (Abb. 6), die aber nur für eine bestimmte Säurequalität gilt.

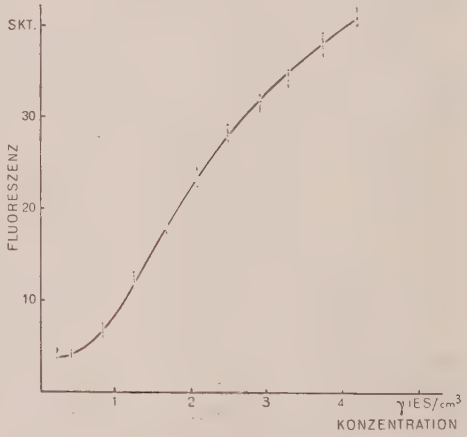


Abb. 6. Eichkurve
(8 aufeinanderfolgende Versuche)

Die Empfindlichkeit der Methode ist so groß, daß im eben erwähnten Gebiet Konzentrationen, die 0,05 bis 0,1 γ/cc auseinanderliegen, noch unterschieden werden können.

Nach einiger Übung ist die Streuung der Versuchsergebnisse klein. Die mittlere Abweichung σ des Einzelwertes, berechnet nach

$$\sigma = \pm \sqrt{\frac{\Sigma d^2}{F}},$$

wobei a = Differenz der Einzelwerte zu ihrem arithmetischen Mittel und F = die Zahl der Freiheitsgrade (d. h. Zahl der Einzelwerte n minus 1) ist, beträgt für die Bestimmungen im Gebiet zwischen 0,8 und 3,8 γ IES/cc 2 bis 3 %. Werden die Messungen an den gleichen Versuchslösungen (IES)

n-mal wiederholt, so ist die mittlere Abweichung m des Mittelwerts nach $m = \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$ meistens unter 1 %.

Beispiel:

Eine IES-Lösung der Konzentration 4,2 γ/cc wurde jeweils elfmal zubereitet, der Reaktion unterworfen und gemessen. Es resultierten folgende Einzelwerte der Fluoreszenz: 41,5 — 43 — 43 — 41,2 — 41,5 — 42 — 42,8 — 43 — 42,2 — 41 — 43,5, der Mittelwert beträgt 42,2, $\sigma = 0{,}85$ (~ 2 %), $m = 0{,}28$ ($\sim 0{,}7$ %).

In der Annahme, daß es sich hier um eine für den Indolkern typische Reaktion handle, wurde auch untersucht, wie weit Tryptophan (β-Indol-alanin) reagiert. Es zeigte sich, daß die Reaktion zur Bestimmung von Tryptophan ungeeignet ist. Allerdings entwickelt sich im UV-Licht eine Fluoreszenz von gleicher Farbe wie bei IES. Sie ist aber so schwach, daß sie für quantitative Bestimmungen nicht in Frage kommt. Statt der bei der IES-Reaktion auftretenden stark roten Eigenfarbe ist bei Tryptophan eine schwache Gelbfärbung zu beobachten.

C. Versuche über die IES-Aufnahme durch Hypokotyle von *Cucumis*

Wenn man die Aufnahme von IES durch Pflanzenteile aus wässeriger Lösung bestimmen will, so kann das auf zwei Arten geschehen:

1. Durch Extraktion der aufgenommenen IES aus den Pflanzenteilen und Bestimmung der IES-Menge im Extrakt;
2. durch Feststellung der IES-Abnahme in der Einlegeflüssigkeit, wobei vorausgesetzt wird, daß die hier verschwundene Menge aufgenommen wurde (Sutter 1944, S. 221).

Die erste Methode hat sich als schwierig erwiesen (Sutter 1944, S. 232, Huber 1951, S. 527). Auch bei der zweiten gelang es Sutter nicht, die Abnahme der IES direkt durch ihre Bestimmung in der Einlegeflüssigkeit nachzuweisen, da von den Pflanzenteilen Stoffe abgeschieden wurden, die die Reaktion störten. Zur Trennung von diesen hat sie mit Äther extrahiert und dann die IES bestimmt.

Ich verwendete die zweite Methode, und zwar sind meine Versuche darauf gerichtet, die Verwendbarkeit der fluorometrischen Methode zur direkten Bestimmung der IES in der Einlegeflüssigkeit unter Vermeidung jeglicher Extraktionsarbeit zu erproben.

Um den Einfluß der Stoffe, die von Pflanzen abgegeben werden, zu bestimmen, wurden IES-Lösungen mit Wasser zubereitet, in das Hypokotyle von *Cucumis* eingelegt worden waren. *Cucumis sativus* wurde als Versuchsobjekt gewählt, um einerseits auf die Erfahrungen von Sutter (1944) und Huber (1951) zurückgreifen zu können und um andererseits die Möglichkeit zu haben, die Versuchsresultate zu vergleichen[1]).

[1]) Aufzucht der Gurkenkeimlinge nach Huber (1951, S. 506); im Dunkeln, bei 20 bis 25° C. Verwendete Samen: Landgurken, grüne, lange, verbesserte Schlangen, HABA No. 2078, Ernte 1950, F. Haubensak Söhne A.G., Basel.

Würden von den Hypokotylen fluoreszierende Stoffe abgegeben, wie dies METZNER (1930) bei den meisten keimenden Samen konstatiert, so wären die Versuchsresultate von vornherein gefährdet. Meine Versuche zeigten, daß dies in den ersten acht Stunden Einlegezeit nicht vorkommt. Erst bei längerem Einlegen treten blau fluoreszierende Stoffe auf. Möglicherweise handelt es sich dabei um die „uncharakteristische Blaufluoreszenz" KOSCHARAS (1936), die von nicht näher bestimmten Naturstoffen hervorgerufen wird. Es sei hier auch auf KISSER (1950) hingewiesen.

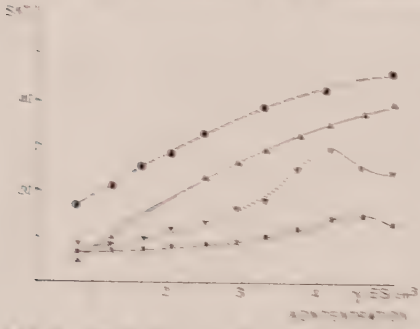


Abb. 7. Verdünnung der Fluoreszenz durch „Versuchslösung" IES zubereitet mit Wasser, in dem Hypokotyle von *Cucumis* verschieden lang eingelegt waren (= „Versuchslösung")

- ohne Versuchslösung
- Einlegezeit 7 Stunden
- Einlegezeit 16 Stunden
- Einlegezeit 67 Stunden

Bei kurzen Einlegezeiten werden die Kurven allerdings in bezug auf die mit den reinen IES-Lösungen erhaltenen etwas verschoben, können aber gut ausgewertet werden (Abb. 7), wenn entsprechende Eichkurven aufgestellt sind.

Die fluorometrische Bestimmungsmethode kann also angewendet werden, wenn Einlegezeiten von weniger als acht Stunden eingehalten und die Vergleichslösungen geeignet, d. h. mit Wasser, in das die gleiche Anzahl Hypokotyle eingelegt war, zubereitet werden.

Zur Messung der IES-Aufnahme werden die Pflanzenteile in eine IES-Lösung von bekanntem Gehalt eingelegt und nach Ablauf der Einlegezeit wird der Gehalt dieser „Versuchslösung" fluorometrisch bestimmt. Ist IES durch die Pflanze aufgenommen worden, so wird eine Verkleinerung der IES-Konzentration der Lösung festzustellen sein. Eine enzymatische Zerstörung der IES, die die Resultate verfälschen könnte, tritt, wie SUTTER (1944, S. 221) und HUBER (1951, S. 530) feststellten, bei entsprechender Versuchsanstellung nicht auf. Über den oxydativen Zerfall der IES, wie ihn ALBERS (1946) bespricht, ergaben eigene Versuche folgendes: IES-Lösungen der Konzentration 50 γ/cc, die zwölf Stunden offen stehengelassen wurden, zeigten keine Abnahme ihres IES-Gehalts; nach vier Monaten war dann eine Abnahme von 50 % festzustellen. Bei Einlegeversuchen, die mit gepufferten IES-Lösungen niederer Konzentration im Dunkeln und kurzfristig durchgeführt werden, ist auch bei Versuchstemperaturen von 25 ° C keine Abnahme des IES-Gehalts durch Zerfall anzunehmen.

Zur Bestimmung der IES-Abnahme wird jeweils von jeder Probe der Versuchslösung eine Konzentrationsreihe angefertigt und diese mit dem Gehalt von in gleicher Weise zubereiteten Vergleichslösungen verglichen. Die Abnahme wird in Prozent des Gehalts der Vergleichslösung ausgedrückt und von diesen prozentualen Abnahmen der Mittelwert bestimmt.

Für die Einlegeversuche werden Hypokotyle von *Cucumis* verwendet, bei denen die Kotyledonen so entfernt sind, daß die anschließende Wachstumszone am Hypokotyl bleibt und die Wurzeln kurz oberhalb der Wurzelhalter abgeschnitten werden. Diese geraden Stäbe werden in die Lösung eingelegt.

80 Hypokotyle von 4 cm Länge (Alter fünf Tage) werden drei Stunden bei 24° C im Dunkeln in 50 cc gepufferte IES-Lösung (Konzentration: 10 IES/cc = $2{,}86 \cdot 10^{-4}$ mol, 20% Zitronensäure-Phosphorsäure-Puffer pH 5) eingelegt. Dann wird die Verdünnung gemessen (siehe oben) und der IES-Gehalt fluorometrisch bestimmt. Zur Kontrolle der Verdünnung durch eine Pufferlösung (destillierten Wasser + 20% Puffer pH 5) legte ich 20 Hypokotyle unter gleichen Bedingungen eingelegt waren.

Ergebnisse:

In neun derart angestellten Versuchsreihen zu je fünf Doppelmessungen zeigte sich eine Abnahme des IES-Gehalts der Verdünnung um 9,28 bis 10,9 %; die durchschnittliche Abnahme beträgt 9,9 ± 0,7 %. In γ IES ausgedrückt: Die 80 Hypokotyle nahmen in drei Stunden 247,5 ± 15 γ IES auf.

Das Volumen von 80 Hypokotylen beträgt etwa 7,30 cc (Sierra 1944, S. 227). Wenn, wie Sierra (S. 214) berechnet, die Hypokotyle so viel IES aufnehmen, daß die IES-Konzentration in dem in ihnen enthaltenen Wasser (97,5 % = 7,10 cc) gleich groß wird wie diejenige der Lösung, in die sie eingelegt sind (Gleichgewichtskonzentration), so müßten 155 ± 10 γ aufgenommen werden. Die in drei Stunden aufgenommenen 247,5 ± 15 γ stellen ~ 70 % der Gleichgewichtskonzentration dar. (Sierra gibt bei der gleichen Temperatur für drei Stunden eine Annäherung von 75 % der Gleichgewichtskonzentration an.)

II. Lokalisierung des aufgenommenen Heteroauxins im Gewebe der Pflanze

A. Die verwendeten Reaktionen

Für die Wuchsstoff-Forschung ergibt sich nicht nur die Notwendigkeit der quantitativen Bestimmung der aufgenommenen Wuchsstoffe, sondern ebenso wertvoll wäre ihre Lokalisierung im pflanzlichen Gewebe. Deswegen wurden Untersuchungen nach dieser Richtung unternommen.

Beim histochemischen Nachweis von Substanzen handelt es sich meistens um eine selektive Anfärbbarkeit von Gewebeteilen oder Zellbestandteilen mit Farbstoffen oder um die Bildung von farbigen Produkten bei der Einwirkung von Reagenzien. Dabei können auch fluoreszierende Stoffe spezifisch adsorbiert werden oder Fluoreszenzfarben unter dem Einfluß von Reagenzien entstehen.

Wie ich auf S. 217 bemerkte, existiert eine ganze Anzahl Farbreaktionen auf IES, man vermißt aber eine spezifische Reaktion. Besonders wichtig wäre die Unterscheidbarkeit von IES und Tryptophan. Da dieses in der

Pflanze häufig vorkommen dürfte. Die größte Spezifität für IES wird der SALKOWSKI-Reaktion zugeschrieben (Nachweis mit eisenchloridhaltiger Salzsäure) (BONNER 1950, S. 443, WINKLER und PETERSEN 1935). Meine Versuche zeigen, daß die Unterscheidbarkeit von Tryptophan im untersuchten Konzentrationsbereich von 0,2 bis 500 γ/cc gesichert ist, da das Reagens mit Tryptophan keine Reaktion zeigt. Auch die Kupfersulfat-Schwefelsäure-Reaktion (S. 223) erlaubt die Unterscheidung durch die Eigenfarbe (nicht aber durch die Fluoreszenzfarbe).

Da aber jedes Ergebnis durch parallel geführte IES-freie Kontrollversuche überprüft werden kann, genügen meistens alle Indolreaktionen, auch wenn sie nicht unbedingt spezifisch sind.

Histochemische Nachweisreaktionen für IES

Als erstes wurde die Kupfersulfat-Schwefelsäure-Reaktion auf ihre histochemische Verwendbarkeit untersucht, denn auch hier hätte ich eine Fluoreszenzreaktion vorgezogen. Es zeigte sich aber, daß die Schwefelsäure durch Verkohlung jede Struktur zerstört und die auftretende Fluoreszenz überdeckt. Diese Methode scheidet demnach aus.

Als nächstes wurde versucht, diese Verkohlungswirkung zu vermeiden, indem die Schwefelsäure durch eine andere Säure ersetzt wurde. Ein Erfolg trat sofort mit Salzsäure ein. Diese Säure hat den großen Vorteil, als Dampf angewendet werden zu können. Werden Schnitte von Maiskörnern in IES-Lösung eingelegt, dann mit Kupfersulfatlösung getränkt und Salzsäuredämpfen ausgesetzt, so tritt an den Stellen, wo offenbar IES gespeichert wurde, eine intensive Rotfärbung auf. Die Farbe ist streng auf die entsprechenden Gewebe beschränkt. Eine Fluoreszenz bei UV-Belichtung ist nicht zu beobachten.

Auftropfen von SALKOWSKIS Reagens[1]) auf solche Schnitte bewirkt ebenfalls eine Rotfärbung der gleichen Gewebe.

Die gleiche Rotfärbung tritt auch bei der alleinigen Anwendung von konzentrierter Salzsäure auf und ist wohl auf ihren Gehalt an Spuren von Eisen oder auf den Eisengehalt der pflanzlichen Gewebe zurückzuführen.

Auch EHRLICHS Reagens[2]) eignet sich zum Nachweis von IES in pflanzlichen Geweben. Die Spezifität ist hier aber geringer (GLICK 1949, S. 74). Eigene Beobachtungen zeigten z. B. an Rhizomen von *Convallaria majalis*, die nicht in IES-Lösung eingelegt waren, eine sehr intensive Rotfärbung mit diesem Reagens. Wenn aber Kontrollen das Ausbleiben von solchen Nebenreaktionen sichern, eignet sich das Reagens gut.

Die hauptsächlichsten Störungen der genannten Reaktionen erfolgen durch jene Stoffe, die als Lignin eine positive Phloroglucin- und Anilinsulfatprobe ergeben. Indolkörper sind nämlich in Verbindung mit Säure ebenfalls ein Reagens auf Lignin. Da alle obenerwähnten IES-Reagenzien Säure

[1]) 100 cc HCl conc. d = 1,19 + 0,5 cc gesättigte $FeCl_3$-Lösung + 50 cc Wasser.
[2]) 2 g p-Dimethylaminobenzaldehyd in 100 cc HCl 20 %.

enthalten, kann eine durch sie bewirkte Rotfärbung auch eine Reaktion von IES auf Lignin anzeigen. Die rote Farbe beweist allerdings auch dann die Anwesenheit von IES, eine scheinbare Bevorzugung eines Gewebes kann aber durch die Anwesenheit von Lignin in diesem Gewebe vorgetäuscht werden. Bei allen Versuchen muß zur Vermeidung von Irrtümern immer die Abwesenheit von Lignin an den Stellen mit positiver IES-Reaktion konstatiert werden. Am unangenehmsten wirkt sich diese Störung in den Gefäßen aus. Bei einiger Übung lernt man übrigens, die IES/Reagens-Reaktion von der IES/Lignin-Reaktion an ihrer Farbe und ihrem Aussehen zu unterscheiden.

Die IES-Reaktion kann ferner durch das natürliche Vorkommen von roten Farbstoffen wie Anthocyan vorgetäuscht oder verdeckt werden.

Nachweis anderer Indolkörper

Tryptophan kann wie IES mit Ehrlichs Reagens nachgewiesen werden. Salkowski-Reagens reagiert mit Tryptophan nicht und ermöglicht die Unterscheidung.

β-Indolyl-propionsäure gibt mit Salkowski-Reagens eine rote Farbe, mit Ehrlichs Reagens eine violettrote, die rasch in eine intensiv blaue übergeht.

Methodisches zum Nachweis der IES in Gewebeschnitten

a) Kupfersulfat-Salzsäure-Methode. Die leicht abgetrockneten Schnitte werden auf dem Objektträger mit etwas m/20 Kupfersulfatlösung betropft. Man läßt diese zehn Minuten einwirken und setzt dann, am besten unter einer Glasglocke, das Präparat einige Minuten den Dämpfen von konzentrierter Salzsäure aus. Beim Auftreten einer Rotfärbung bewegt man den Objektträger kurz über einer kleinen Flamme, um die Färbung zu verstärken, und spült dann den Säureüberschuß mit Brunnenwasser ab. Die Rotfärbung des Gewebes ist nicht sehr stabil und bleicht beim Stehen an der Luft aus oder geht in Blau über. IES-freie Gewebe bleiben ungefärbt oder färben sich unter dem Einfluß der Salzsäure auf das Kupfersalz gelblich.

b) Salkowski- und Ehrlich-Methode. Die Schnitte werden auf dem Objektträger mit dem Reagens betropft. Wenn eine Reaktion nicht zustande kommt, überzeugt leichtes Erwärmen davon, ob sie negativ ist oder nur langsam verläuft. Wenn die Reagenzien mit etwas Glycerin vermischt sind, ergibt leichtes Kochen eine deutlichere Reaktion. Der entstehende rote Farbstoff ist bei der Salkowski-Reaktion von größerer Intensität und haltbarer als derjenige der Ehrlich-Reaktion, der beim Trocknen leicht in Blau übergeht, wobei dann die Gewebespezifität Schaden nehmen kann. In verholzten Teilen geht das Salkowski-Rot oft in ein typisches Olivgrün über.

Methodisches zum Nachweis der IES in ganzen Pflanzen

Wenn ganze Pflanzen nach dem Einlegen in IES-Lösungen auf die Speicherung von IES untersucht werden sollen, so werden sie entweder mit

SALKOWSKI- oder EHRLICH-Reagens betropft oder besser einige Sekunden in das Reagens eingelegt. Der Säuregehalt der Reagenzien ist nicht derartig groß, daß die Gewebe dadurch sofort zerstört würden. Behandlung mit konzentrierter Salzsäure erzeugt ebenfalls eine intensivere Farbreaktion mit IES, ist aber wegen der zerstörenden Wirkung auf die Gewebe der Pflanze nicht zu empfehlen. Bei genügend langen Einlegezeiten und hohen IES-Konzentrationen (vier Stunden und länger, 250 bis 500 γ IES/cc) erhält man so sehr überzeugende Resultate. Niedere, physiologisch günstigere Konzentrationen wie 50 γ/cc ergeben immer die gleichen Lokalisierungen, aber entsprechend schwächere Reaktionen.

B. Ergebnisse der histochemischen Untersuchung

Einleitend muß definiert werden, was in der Folge als positiver Nachweis aufgenommener IES in der Pflanze betrachtet wird:

Wenn an Pflanzenteilen, bei denen die Abwesenheit von Lignin und von Farbstoffen, wie Anthocyan, konstatiert wurde und die der Einwirkung von IES unterworfen wurden, mit den auf Seite 228 ff. erwähnten Reagenzien eine Rotfärbung auftritt, so wird diese Reaktion als positiver Beweis für die Aufnahme der IES und ihre Speicherung an der betreffenden Stelle gewertet.

Wenn an der betreffenden Stelle das Vorhandensein von Stoffen, die eine positive Ligninreaktion ergeben, konstatiert wurde, so kann aus einer dort stattfindenden Rotfärbung wohl auf das Vorhandensein von IES geschlossen werden, nicht aber auf eine besondere Affinität jener Stelle zur IES.

Ein in diesem Sinne erfolgreicher Nachweis der IES wird immer als „positive IES-Reaktion" bezeichnet. Unter „negativer Reaktion" verstehe ich das vollständige Ausbleiben des genannten Phänomens.

Es wird ferner nie besonders vermerkt, daß alle Ergebnisse stets durch Vergleich mit den entsprechenden IES-freien Kontrollen gesichert sind.

Der Unterschied in der IES-Speicherung zwischen Wurzel und Sproß

An verschiedenen Pflanzen wurde eine Erscheinung entdeckt, die hier vorerst am Maiskeimling demonstriert werden soll: die viel intensivere Aufnahme und Speicherung der IES durch die Wurzel im Vergleich zum Sproß.

Wenn Schnitte von gequollenen Maiskörnern, die längs durch den Embryo gehen, in IES-Lösung eingelegt und diese Schnitte nachher einer IES-Reaktion unterworfen werden, so zeigt sich eine positive Reaktion zuerst und am stärksten in der Radicula, später und wesentlich schwächer in der Koleoptile. Alle anderen Teile des Maiskorns (Scutellum, Endosperm und Fruchtschale) geben eine negative IES-Reaktion. Es zeigt sich also eine wesentliche Bevorzugung der Wurzel vor dem Sproß (Abb. 8).

Legt man ganze Maiskörner verschiedener Keimungsstadien in IES-Lösung ein, so kann man eine positive IES-Reaktion der Koleorhiza erkennen, sobald diese die Fruchtschale durchstoßen hat. Wenn der Sproßteil

ebenfalls aus dem Korn herausgetreten ist, zeigt er hingegen eine negative IES-Reaktion (etwa am fünften Tage nach Beginn des Quellens in laufendem Brunnenwasser, s. Abb. 9). In den folgenden Tagen und Keimungsstadien bleiben diese Erscheinungen unverändert, bis die Wurzel die Wurzelscheide durchstößt (sechster/siebenter Tag). Die Reaktion des Sprosses bleibt negativ, die der Wurzelscheide positiv, die austretende Wurzelspitze aber reagiert noch stärker positiv als die Koleorhiza.

Längsschnitte durch diese jungen Keimlinge zeigen ein entsprechendes Bild. Solange die Wurzel von der Wurzelscheide umschlossen ist, zeigt hauptsächlich die letzte eine positive Reaktion. Ebenfalls positiv, aber vorläufig noch schwach, reagiert die Wurzel selbst. Der Sproß hingegen zeigt negative Reaktion, mit Ausnahme des Vegetationspunktes, der deutlich positiv reagiert. — Wenn die Wurzel die Koleorhiza durchstoßen hat, zeigt ihre Spitze eine wesentlich verstärkte Reaktion, und die ganze Epidermis reagiert stärker als die Koleorhiza.

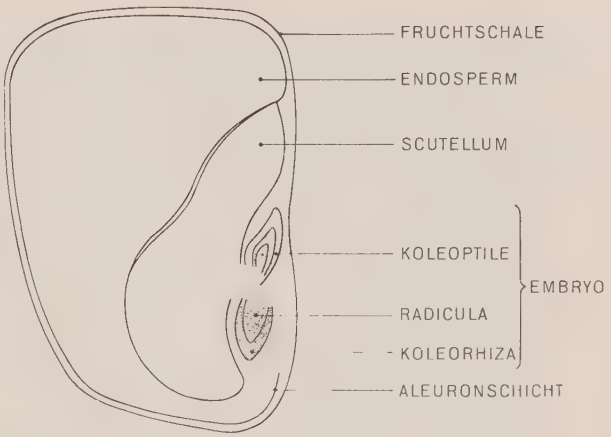


Abb. 8. Anreicherung von IES im Schnitt eines Maiskorns. Schnittdicke etwa 100 μ, Schnitte 4 Stunden im Dunkeln in IES 500 γ/cc eingelegt. Nachweis: $CuSO_4$/HCl. Punktiert: positive Reaktion

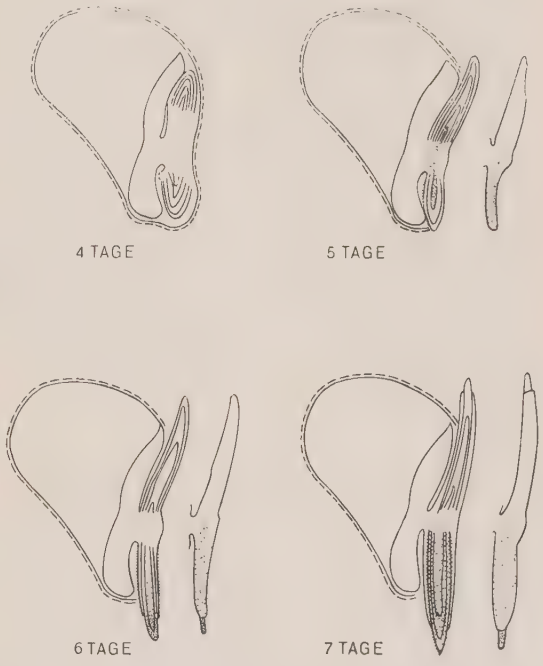
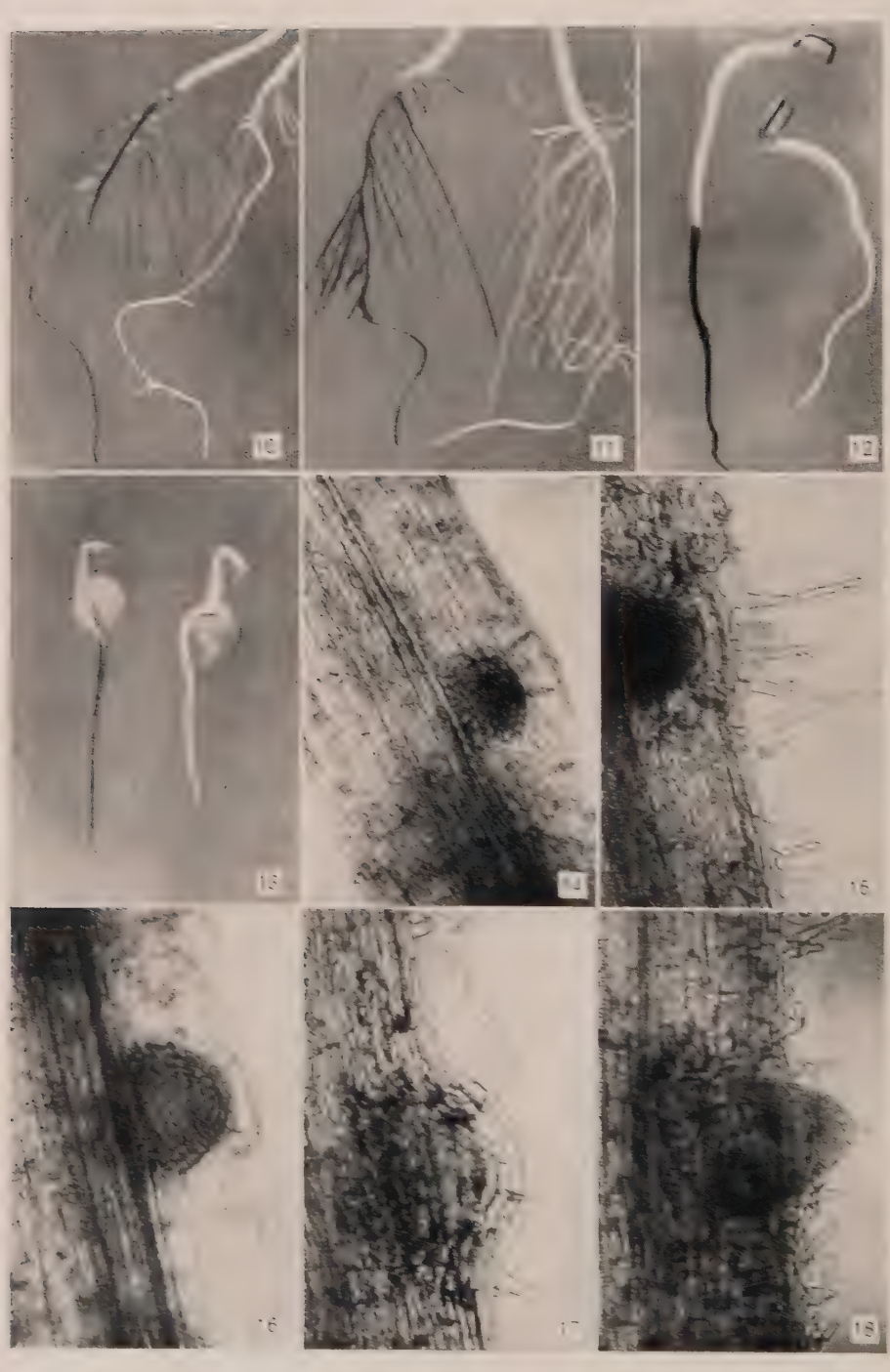


Abb. 9. IES-Aufnahme durch *Zea Mays*. Körner verschiedenen Alters je 40 Stunden in IES 500 γ/cc eingelegt. Punktiert: SALKOWSKI-Reaktion positiv

Schnitte durch Maiskörner in einem jüngeren Stadium, wo die Fruchtschale noch intakt ist, lassen deutlich erkennen, das diese Schale von der IES


10
11
12
13
14
15
16
17
18

nicht oder doch nicht in einem durch meine Methoden erkennbaren Maß durchdrungen wird: es ist keine positive IES-Reaktion am Embryo festzustellen[1]). Im gleichen Stadium zeigen Schnitte, wie oben festgestellt, eine große Affinität des Embryos für IES.

Solange man auch die Entwicklung der Keimlinge weiter verfolgt, immer ist die kräftige positive IES-Reaktion der Wurzel und die negative des Sprosses erkennbar.

Zusammenfassend kann also festgestellt werden: Bei Betrachtung der Keimpflanze kann eine auffallend starke IES-Reaktion der Wurzel im Unterschied zu derjenigen des Sprosses beobachtet werden. Ich interpretiere dies im Sinne einer größeren Aufnahmeintensität der Wurzel, was eine Erklärung liefern würde für den von GEIGER-HUBER und BURLET (1936) konstatierten geringeren IES-Bedarf der Wurzel zur Erreichung des gleichen Wachstumseffekts wie beim Sproß. Wenn die Intensität der Wuchsstoffaufnahme der Wurzel größer ist als die des Sprosses, so kann die Wurzel eine ihr zur Verfügung stehende IES-Lösung besser ausnützen als der Sproß; es genügt also schon eine kleinere IES-Menge zur Erreichung des gleichen Effekts. Wenn die genannten Autoren eine maximale Förderung des Wachstums von Maiswurzeln durch eine IES-Konzentration von $3 \cdot 10^{-11}$ mol und des Sprosses von 10^{-5} mol finden, so könnte dies von einer 10^6 mal größeren Aufnahmeintensität der Wurzel herrühren.

Die erhöhte Aufnahme- und Speicherungsintensität der Wurzel für IES gegenüber dem Sproß ist bei allen untersuchten Pflanzen festzustellen. Immer liegt die Grenze zwischen den zwei Farbzonen am Wurzelhals, unbeeinflußt z. B. durch die Tatsache, ob es sich um Pflanzen mit hypogäischer oder epigäischer Keimung handelt.

[1]) Dieser Befund dürfte im Hinblick auf die IES-Behandlung von Saatgut interessant sein. Nach SÖDING (1952, S. 289) „scheinen Untersuchungen über die Art und das Ausmaß des Eindringens der Wirkstoffe in den Samen vollständig zu fehlen".

Abb. 10. *Cucumis sativus* (Alter 7 Tage). Pflanze links 10 Std. in IES 500 γ/cc eingelegt (18 °C, dunkel). Sproß zeigt negative, Wurzel positive SALKOWSKI-Reaktion; Grenze = Wurzelhals. Pflanze rechts in Wasser eingelegte Kontrolle. Sproß und Wurzel zeigen keine SALKOWSKI-Reaktion

Abb. 11. *Phaseolus vulgaris* (Alter 5 Tage). Pflanze links 10 Std. in IES eingelegt (wie oben). Pflanze rechts in Wasser eingelegte Kontrolle. SALKOWSKI-Reaktion wie oben

Abb. 12. *Lupinus albus* (Alter 5 Tage). Pflanze links 10 Std. in IES eingelegt (wie oben). Pflanze rechts in Wasser eingelegte Kontrolle. SALKOWSKI-Reaktion wie oben. (Wurzelhals bei beiden Pflanzen in der gleichen Höhe)

Abb. 13. *Pisum sativum* (Alter 5 Tage). Versuchsbedingungen wie oben. Die Primordien der Seitenwurzeln und ihre heraustretenden Spitzen heben sich durch ihre stark positive SALKOWSKI-Reaktion deutlich von der übrigen Wurzel ab

Abb. 14 bis 18. *Cucumis sativus* (Alter 7 Tage). Versuchsbedingungen wie oben. Seitenwurzel-Primordien in verschiedenen Entwicklungsstufen: positive SALKOWSKI-Reaktion (in der Photographie deutlich dunkler). In den Wurzelhaaren und in den übrigen Geweben Reaktion negativ

Untersucht wurden die folgenden Pflanzen: *Cucumis sativus, Phaseolus vulgaris, Pisum sativum, Lupinus albus, Vicia faba, Arachis hypogaea, Zea Mays*[1]) (Abb. 10 bis 13).

Stellen bevorzugter IES-Speicherung in der Wurzel

Die Erscheinungen an der Wurzel sollen im Detail hier am ein bis sieben Tage alten *Cucumis*-Keimling besprochen werden.

Die IES-behandelte Wurzel reagiert auf IES-Reagenzien nicht nur als Ganzes stärker als der Sproß, sondern es lassen sich deutlich besonders intensiv reagierende Stellen an den Wurzelspitzen unterscheiden.

Bei mikroskopischer Betrachtung kann an Haupt- und Seitenwurzeln folgendes festgestellt werden:

Die Wurzelhaube zeigt negative Reaktion; sie ist in allen Fällen IES-frei.

Die positive Reaktion beginnt mit den Initialzellen, erstreckt sich über die ganze Zone des embryonalen Wachstums mit ihren kubischen kleinen Zellen (Meristem) und über die Streckungszone mit den langen Zellen. In dieser Zone konzentriert sich die positive Reaktion bald immer mehr auf das Zentrum der Wurzel und läuft dann zusammen in dem Zentralzylinder gegen die hier beginnenden Gefäße. Hier ist die Wurzelrinde also frei von so nachweisbarem IES. Die Zone positiver IES-Reaktion ist bei *Cucumis* nur einige Millimeter lang, bei *Pisum* und *Phaseolus* ist sie etwas länger. Im weiteren Verlauf der Wurzel wird die kräftigste Reaktion im Zentralzylinder angetroffen. Die Lokalisierung ist hier wegen des Ligningehalts der Gefäße schwierig. Ein Vergleich zwischen einer IES-freien Wurzel, die mit Phloroglucin auf Lignin geprüft wird, und einer IES-behandelten Wurzel zeigt aber, daß auch das die Gefäße umgebende ligninfreie Parenchym eine positive IES-Reaktion aufweist.

Die Wurzelrinde bleibt durch die ganze Wurzel IES-arm. Immerhin enthält sie, wie schon gesagt, mehr IES als der Sproß. In keiner der untersuchten IES-behandelten Pflanzen konnte ich IES in den Wurzelhaaren nachweisen (Abb. 15).

Interessant ist das Verhalten der entstehenden Seitenwurzeln. Sobald im Perizykel die Primordien gebildet sind, findet man in ihnen eine positive IES-Reaktion, die ebenso kräftig ist wie die der Haupt- und Seitenwurzeln. Sie heben sich dadurch vom umgebenden Wurzelgewebe deutlich ab und fallen schon bei Betrachtung mit bloßem Auge stark auf (Abb. 13). Die positive Reaktion ist eindeutig und scharf auf das Gewebe des Primordiums beschränkt (Abb. 14 bis 18). Wenn die Seitenwurzeln die Epidermis der Wurzel durchstoßen, ist dies besonders deutlich sichtbar. Wenn sie eine Länge von ein bis zwei Millimetern erreicht haben, erscheinen sie noch diffus mit IES erfüllt. Später zeigen sie genau das gleiche Zonenbild

[1]) Aufzucht der Keimpflanzen: *Cucumis sativus* nach HUBER (1951, S. 506). *Zea Mays* nach SEILER (1951, S. 624), in der gleichen Weise *Pisum sat., Lupinus albus, Phaseolus vulg.* — *Vicia faba* und *Arachis hypogaea* in Torf-Sand. Alle dunkel, 20 bis 25° C.

wie die Hauptwurzel. Seitenwurzeln zweiter Ordnung zeigen ein analoges Verhalten.

Bei *Phaseolus*, wo Querschnitte durch die Wurzel besser untersucht werden können, zeigt sich die positive IES-Reaktion im Perizykel, in den Gefäßen (Xylem) und im Phloëm. Der Befund in den Gefäßen ist aber wegen ihres Ligningehaltes mit Vorbehalt zu interpretieren.

Die erwähnte Bevorzugung der wachsenden Zonen ist bei allen untersuchten Pflanzen anzutreffen: *Avena sativa, Cucumis sativus, Phaseolus vulgaris, Pisum sativum, Lupinus albus, Vicia faba, Arachis hypogaea, Zea Mays.* Besonders interessant ist die Wachstumszone an Luftwurzeln von *Vanilla planifolia*, die in ihrer ganzen Länge von 5 bis 7 cm eine positive IES-Reaktion zeigt.

Beobachtungen über Permeiergeschwindigkeit und Anreicherung in der Wurzel

Am Mais-Embryo und an den Wurzeln der verschiedensten Pflanzen kann konstatiert werden, daß die aufgenommene IES durch Wässern nicht mehr entfernt werden kann. Tagelanges Wässern in fließendem Wasser verändert den IES-Gehalt an den Speicherungsstellen nicht so, daß die Intensität der IES-Reaktion merklich abnimmt.

Für diese Haftkraft der IES im Gewebe muß sicher ihre große Adsorptionsintensität, wie sie von Sutter (1944) gegenüber Kohle und von Linser (1951) gegenüber Aluminiumoxyd festgestellt wurde, und daneben ihr ausgesprochen lipophiler Charakter verantwortlich gemacht werden (Geiger-Huber und Sutter, 1943).

Wie Lepeschkin (1938, S. 151) zusammenfassend sagt, hat das Protoplasma die Fähigkeit, „lipoidlösliche Stoffe zu lösen, anzuhäufen und durch sich leicht hindurchzulassen", was „durch die Anwesenheit von Lipoiden in seiner Intermizellarphase erklärt werden" kann. Es ist nicht notwendig, hier näher auf die Theorien über das Permeieren von Stoffen einzugehen. Die meisten bringen den Permeiervorgang organischer Stoffe u. a. mit dem Lipoidgehalt des Plasmas in Zusammenhang. In einem einfachen Modellversuch läßt sich die große Lipophilie der IES folgendermaßen zeigen: ein Filtrierpapier, das durch Eintauchen in heißes Lanolin fettgetränkt ist, und ein unbehandeltes Filtrierpapier werden gleich lang in IES-Lösung eingelegt. Abgetrocknet zeigen beide eine etwa gleich starke IES-Reaktion mit Salkowski-Reagens. Nach kurzem Wässern ist das unbehandelte Filtrierpapier aber schon wieder annähernd IES-frei, das fettbehandelte zeigt hingegen noch nach langem Wässern die gleich intensive IES-Reaktion.

Ebenfalls durch den lipophilen Charakter ist das rasche Eindringen der IES in das Gewebe bedingt. Schon nach fünf Minuten zeigen feine *Avena*-Seitenwurzeln, die in IES 500 γ/cc eingelegt sind, positive IES-Reaktion. Dabei ist noch zu bedenken, daß für das Zustandekommen einer positiven Reaktion ziemlich hohe IES-Konzentrationen im Gewebe nötig sind. Durch Adsorptionskraft und lipophilen Charakter ist wohl auch die Erscheinung der Anreicherung im wachsenden Gewebe zu erklären. Die Wachstums-

zonen zeigen durchgehend eine derart intensive Färbung, wie sie mit einem Tropfen der gleichen IES-Konzentration nie zustande kommt. Es wird also in den wachsenden Geweben die IES in ihrer Konzentration erhöht und angehäuft. Dieser Befund, der auch an der Wachstumszone des *Cucumis*-Hypokotyls gemacht wurde, stellt die Meinung SUTTERS (1944, S. 227) in Frage, wonach wachsende und nicht wachsende Teile gleich viel IES aufnehmen.

Es sollte ferner festgestellt werden, ob die von ALGEUS (1946) konstatierte Unwirksamkeit der IES in neutraler Lösung darauf zurückzuführen sei, daß die IES dann nicht oder nur in sehr geringem Maße in die Pflanze eindringt. Zur Feststellung der pH-Abhängigkeit des Eindringens der IES wurde die Einlegezeit von Wurzeln in IES-Lösungen von verschiedenem pH gemessen, die nötig war, damit eben eine positive IES-Reaktion in ihnen festgestellt werden konnte. Es zeigte sich, daß diese Zeiten mit steigendem pH zunahmen, bei pH 7 und darüber aber unendlich wurden. Wird die Permeierzeit in Abhängigkeit vom pH als Kurve aufgezeichnet, so verläuft sie gleich wie die Dissoziationskurve. Dadurch wird die bekannte Tatsache (ALBAUM, KAISER und NESTLER, 1937), daß die IES in Molekülform rascher eindringt als ionisiert, erneut bewiesen und konstatiert, daß bei pH 7 und höher keine Aufnahme mehr stattfindet (Abb. 19).

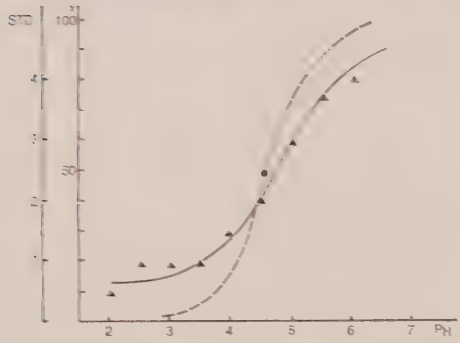


Abb. 19. Permeiergeschwindigkeit und Dissoziation der IES
– – – – – Dissoziationskurve der IES
. . . Minimalzeit bis zum Zustandekommen einer positiven SALKOWSKI-Reaktion (Seitenwurzeln von *Cucumis sativus*, Alter 7 Tage, IES 250 γ/cc, 20 % Zitronensäure-Phosphorsäure-Puffer, Temperatur 20 °C)

Wenn aus den Aufnahmezeiten die Größe v berechnet wird, die angibt, wieviel mal schneller die Moleküle im Vergleich mit den Ionen aufgenommen werden, so resultiert aus meinen Versuchen bei 20 ° C die Zahl 8. HUBER (1951, S. 523) fand bei 24 ° C und ebenfalls am Licht die Zahl 7,7.

Die Aufnahme anderer Wuchsstoffe durch die Wurzel

Für α-Naphthylessigsäure (NES) konnte trotz sehr großer darauf verwendeter Mühe leider keine histochemische Nachweisreaktion gefunden werden[1]). Hingegen wurde NES doch zusammen mit IES zu speziellen Versuchen über die Wuchsstoffaufnahme verwendet. Dabei wurde weder eine gegenseitige Verdrängung der beiden Wuchsstoffe, noch eine Blockierung von Reaktionsorten durch sie festgestellt, was wohl kaum anders interpretiert werden kann, als daß die beiden Wuchsstoffe an verschiedenen Reaktionsorten des Protoplasmas angreifen.

[1]) Ich möchte an dieser Stelle Herrn J. STUDINGER (Analytisches Laboratorium des Kantons Basel-Stadt) meinen besten Dank für seine diesbezüglichen Bemühungen aussprechen.

Für β-Indolylpropionsäure konnte nachgewiesen werden, daß die Aufnahme an den gleichen Orten geschieht wie diejenige der IES. Auch mit Indolylpropionsäure (IPS) kann der Unterschied in der Aufnahmeintensität zwischen Sproß und Wurzel klar demonstriert werden, und die Anreicherung der IPS erfolgt ebenfalls in den wachsenden Geweben.

Nach Wildman, Ferri und Bonner (1947), Wildman und Bonner (1948) usw. entsteht IES enzymatisch aus Tryptophan. Es war deshalb interessant, Versuche über die Aufnahme von Tryptophan durch die Pflanze zu machen. Dieses kann ja durch die Ehrlich-Reaktion gut identifiziert werden. Dazu wurden Lösungen verwendet, die in Konzentration und pH den bisher angewandten IES-Lösungen entsprachen. Die Einlegezeiten variierten von einigen Stunden bis zu mehreren Tagen (im letzten Falle zeigten die Keimlinge ein normales Wachstum in der Lösung). In keinem Fall konnte eine Aufnahme des Tryptophans und eine Lokalisierung in bestimmten Geweben nachgewiesen werden. Auch zeigten sich keine Anzeichen einer Umwandlung von Tryptophan in IES nach leichtem Erwärmen oder steigendem pH. — Diese Versuche wurden unter den verschiedensten Verhältnissen durchgeführt: abgetrennte Wurzeln oder ganze Pflanzen eingelegt, ganze Pflanzen eingestellt, Lösung belüftet oder nicht, dunkel und hell. Die Konzentration war so hoch, daß eine Anreicherung hätte festgestellt werden müssen. Interessanterweise reichte die Konzentration nicht einmal aus, um in den verholzten Gefäßen eine Lignin/Indol-Reaktion zu bewirken, wie man sie im Modellversuch leicht erhält. — Aus meinen Versuchen geht also hervor, daß Tryptophan, wenn überhaupt, nicht in demselben Maß durch Keimlinge von Mais und Gurke aufgenommen wird wie IES und daß Tryptophan nicht in der für Indol-Wuchsstoffe charakteristischen Art angereichert wird.

Wurden die Keimlinge nach der Behandlung mit Tryptophan in IES eingelegt, so wurde diese in der bekannten und charakteristischen Weise aufgenommen. Eine Blockierung der Adsorptionsorte für IES im Gewebe fand also durch Tryptophan sicher nicht statt.

Die IES-Speicherung durch den Sproß

Wie ich im vorhergehenden Kapitel feststellte, zeigt der Sproß im Vergleich zur Wurzel mit den angewandten Reagenzien keine IES-Reaktion. Bei genauer Betrachtung läßt sich aber dann erkennen, daß auch der Sproß IES aufnimmt, wie ja schon die quantitativen Untersuchungen zeigten (Sutter 1944; eigene Versuche S. 225 ff.).

Am Mais-Embryo läßt sich die schwache Aufnahme der IES durch die Koleoptile leicht zeigen. An verschiedenen Keimungsstadien der *Cucumis*-Pflanze sei das Verhalten des Hypokotyls gegenüber IES geschildert[1]) (Abb. 20).

Zwei Tage alte Keimpflanze: Wurzel von 10 mm Länge und gebogenes Hypokotyl von 8 mm Länge. Wurzel positive Reaktion, Hypokotyl negativ, Kotyledonen negativ.

[1]) Versuchsobjekt *Cucumis sativus*, Alter vom Beginn des Quellens an gerechnet. Nachher je 10 Stunden in IES-Lösung 500 γ/cc submers eingelegt.

Drei Tage alt, großes Exemplar: Wurzel 40 mm, einige Seitenwurzeln. Sproß 15 mm (gerades Stück und Bogen). Wurzel positiv, deutliche Zonenbildung. Sproß: Kotyledonen negativ, Hypokotylbogen bis 2 bis 3 mm unterhalb der Kotyledonen negativ, dann scharf abgegrenzt Übergang zu einer Zone positiver Reaktion. Das ganze gerade Hypokotylstück reagiert positiv, wobei die Stärke der Reaktion von oben nach unten abnimmt. In der Gegend des Wurzelhalses ist sie sehr schwach.

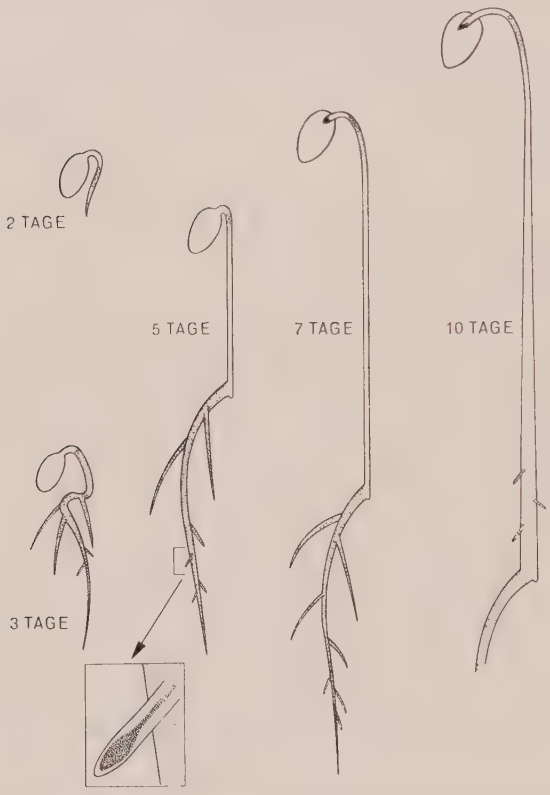


Abb. 20. Verteilung von aufgenommenem Heteroauxin (IES) in verschieden alten Keimpflanzen von *Cucumis sativus*. (Je 10 Std. in IES 500 γ/cc, 18 °C) Punktiert: positive SALKOWSKI-Reaktion. In allen Wurzelspitzen wurde eine besonders intensive Reaktion festgestellt, wie es im Detailbild der 5-Tage-Pflanze veranschaulicht ist

Fünf Tage alt: Wurzel 70 mm, Sproß 50 mm. Wurzel positiv. Sproß: Kotyledonen negativ, dann negative Zone bis 3 mm unterhalb von ihnen, dort scharfe Grenze. Positive Reaktion über 10 mm des Hypokotyls, maximale Intensität am oberen Ende, dann auslaufend. Unterer Teil des Hypokotyls negativ.

Sieben Tage alt: Wurzel 80 mm, Sproß 100 mm. Prinzipiell gleiches Bild. Wenn jetzt das erste Blatt entsteht, reagiert es gleich stark positiv wie die wachsenden Zonen der Wurzeln. Am Hypokotyl reagieren 10 mm des oberen Endes positiv, die Reaktion ist etwas schwächer als die Gesamtreaktion der Wurzel. Übriges Hypokotyl negativ.

Zehn Tage alt: Gleiches Bild. Die Intensität der positiven Zone am Hypokotyl nimmt ab. Das erste, noch sehr kleine Blatt reagiert stark positiv. Die Adventivwurzeln, die jetzt entstehen, zeigen die gleiche Reaktion wie die Haupt- und Seitenwurzeln, sie stechen auffallend gefärbt aus dem durch die IES-Reagenzien ungefärbten Sproßgewebe heraus.

Die stark positiv reagierende Zone am oberen Ende des Hpyokotyls ist dessen wachsende Zone. Sie beginnt unterhalb der Kotyledonen. Die Zone stärksten Wachstums ist einige Millimeter von diesen entfernt. Beim Altern verschiebt sie sich etwas nach unten (SUTTER 1944, S. 215).

Genau wie bei den Wurzeln gibt sich beim Sproß also die wachsende Zone durch eine intensive Anreicherung von IES zu erkennen. Deutlich sichtbar ist, daß die obersten Millimeter des Hypokotyls nicht wachsen und während des ganzen Wachstums unverändert nach oben geschoben werden.

Die Reaktion der Adventivwurzeln entspricht derjenigen der übrigen Wurzeln. Sie zeigen eine deutlich betonte Wachstumszone an der Spitze und im ganzen eine kräftig positive Reaktion, wodurch sie sich vom Sproß sehr deutlich unterscheiden. Werden die Keimpflanzen von *Cucumis* bis zum Wurzelhals in IES-Lösung eingestellt und in einer 100 % wasserdampfgesättigten Atmosphäre gehalten (um den Transpirationssog auszuschalten), so kommt die Reaktion in den Adventivwurzeln doch gleich zustande wie beim totalen Einlegen. Auch im Zentralzylinder läßt sich dann die IES bis auf 1/3 der Sproßhöhe nachweisen. Diese Befunde sprechen für einen raschen, aktiven Transport und Anhäufung am Reaktionsort.

Bei allen histochemischen Untersuchungen ergab sich nie ein Befund, der als Nachweis von autochthonen Wuchsstoffen der Pflanze hätte interpretiert werden können.

Zusammenfassung

1. Es wurde eine Methode zur fluorometrischen Bestimmung der β-Indolylessigsäure (IES) ausgearbeitet. Sie beruht auf der Messung der Intensität der Fluoreszenz, die entsteht, wenn zu IES-Lösungen in geeigneter Weise Kupfersulfat und Schwefelsäure zugegeben werden.
2. Sie gestattet noch eine Erkennung von 0,2 γ IES/cc. Ihre Empfindlichkeit ist so, daß Konzentrationen, die um 0,05 bis 0,1 γ/cc differieren, unterschieden werden können.
3. Mit dieser Methode wurde die Abnahme des IES-Gehaltes von Versuchslösungen bestimmt, in die Hypokotyle von *Cucumis sativus* eingelegt waren.
4. Diese Versuche ergaben, daß die Hypokotyle in drei Stunden (bei 24 ° C im Dunkeln) 70 % jener IES-Menge aufnahmen, die dem Konzentrationsgleichgewicht zwischen der Versuchslösung und dem Wassergehalt der Hypokotyle entspricht.
5. Die im Gewebe der Pflanzen aus Lösungen aufgenommene und gespeicherte IES wurde mittels folgender chemischer Reaktionen lokalisiert: Kupfersulfat-Salzsäure-Reaktion, Ehrlichs Reaktion (mit p-Dimethylaminobenzaldehyd und Salzsäure) und Salkowski-Reaktion (mit Eisenchlorid und Salzsäure).
6. Durch den histochemischen Nachweis aufgenommenen Wuchsstoffs wurde folgendes festgestellt: Wurzel und Sproß unterscheiden sich in bezug auf die IES-Speicherung stark; die Wurzel speichert IES wesentlich intensiver als der Sproß. Diese Beobachtung wurde an allen untersuchten

Pflanzen gemacht: *Cucumis sativus, Phaseolus vulgaris, Pisum sativum, Lupinus albus, Vicia faba, Arachis hypogaea, Zea Mays.*

7. Dagegen wurde bei den histochemischen Untersuchungen nie eine Beobachtung gemacht, die als Nachweis pflanzeneigener (autochthoner) Wuchsstoffe hätte interpretiert werden können.
8. In der Wurzel konnte eine starke Anreicherung der aufgenommenen IES in den wachsenden Geweben (Meristem, Streckungszone und Primordien der Seitenwurzeln) festgestellt werden, dagegen nicht in den Wurzelhaaren. Haupt- und Seitenwurzeln verhalten sich gleich; ebenso zeigen die Adventivwurzeln das gleiche Verhalten.
9. In diesen wachsenden Geweben haftet die IES so stark, daß sie auch durch mehrstündiges Wässern nicht aus ihnen entfernt werden kann.
10. Beobachtungen über das Eindringen der IES in die Pflanze bestätigen bekannte Tatsachen, wie den stark lipophilen Charakter des Heteroauxins (IES) und die pH-Abhängigkeit des Permeierens.
11. Im ausgewachsenen Sproß ließ sich histochemisch keine Anreicherung der IES nachweisen, wohl aber in seiner Wachstumszone.
12. Es wurde ein aktiver Transport der IES in der Pflanze beobachtet.
13. β-Indolylpropionsäure wird an den gleichen Orten und in ähnlicher Weise gespeichert wie IES, während für Tryptophan keine Aufnahme festgestellt werden konnte.
14. Kombinierte Versuche mit IES und α-Naphthylessigsäure ergaben, daß die beiden anerkannt hochwirksamen Wuchsstoffe sich weder von den Reaktionsorten verdrängen noch solche blockieren; es muß daher geschlossen werden, daß sie an differenten und voneinander unabhängigen Reaktionsorten des Protoplasmas angreifen.

Die vorliegende Arbeit entstand 1951/1952 im Botanischen Institut der Universität Basel auf Anregung und unter der Leitung von Prof. Dr. M. Geiger-Huber. Es sei mir gestattet, ihm hier meinen herzlichen Dank auszusprechen für seine rege Anteilnahme an meiner Arbeit und die tatkräftige Unterstützung durch die Mittel des Instituts. Ferner danke ich dem damaligen 2. Assistenten cand. phil. A. Schaefer und Frl. I. Leupin für die Mithilfe bei der Anfertigung der photographischen Aufnahmen, sowie Frl. L. de Vries für ihre Hilfe bei der Ausführung der fluorometrischen Bestimmungen.

Literaturverzeichnis

ABDERHALDEN, E., 1946: Lehrbuch der physiologischen Chemie. 23. Auflage, Basel.

ALBAUM, H. G., KAISER, S., and NESTLER, H. A., 1937: The relation of hydrogen-ion concentration to the penetration of 3-indole acetic acid into *Nitella* cells. Amer. J. Bot. **24**, 513—518.

ALGEUS, S., 1946: Untersuchungen über die Ernährungsphysiologie der *Chlorophyceen*. Botaniska Notiser (Lund), 129—280.

ARNOLD, V., 1911: Die Uroroseinfarbstoffe des Harns. Z. physiol. Chem. **71**, 1—6.

Berthelot, A., Amoureux, G. et Deberque, S., 1939: Sur la recherche de traces d'acide β-indolyle-acétique en présence de tryptophane. C. R. Soc. Biol., **131**, 981—993.

Bonner, J., 1950: Plant Biochemistry. New York.

Danckwortt, P. W., 1940: Lumineszenz-Analyse im filtrierten Ultraviolettlicht. Leipzig.

Dettweiler, Chr., 1942: Über den Einfluß des Heteroauxins auf die Wuchsstoffbildung in höheren Pflanzen. Planta **33**, 258—277.

Förster, Th., 1951: Fluoreszenz organischer Verbindungen. Göttingen.

Garcia-Blanco, J. und Royo, F., 1943: Eine neue Reaktion zur Unterscheidung von Indolderivaten. Medicina española **9**, 39—40.

Geiger-Huber, M. und Burlet, E., 1936: Über den hormonalen Einfluß der ß-Indolylessigsäure auf das Wachstum isolierter Wurzeln in Organkultur. J. wiss. Bot. **84**, 233—253.

— — und Sutter, E., 1943: Die Aufnahme synthetischer Wuchsstoffe durch die Pflanze. Verh. Schweiz. Natf. Ges., 121—123.

Glick, D., 1949: Techniques of Histo- and Cytochemistry. New York.

Gnezda, J., 1899: Sur des réactions nouvelles des bases indoliques et des corps albuminoides. C. R. Acad. des Sci. **128**, 1584—1587.

Gordon, M. and Mitchell, H. K., 1949. A fluorometric method for the estimation of tryptophane. J. Biol. Chem. **180**, 1065—1070.

Grisolia, S., 1943: Neue Reaktionen einiger Indolderivate. Trabajos inst. nacl. cienc. med. Madrid **3**, 367—372.

v. Guttenberg, H., 1949: Wachstum und Bewegung. Fortschritte der Botanik **12**, 323—339 (Sammelreferat).

Haitinger, M., 1937: Die Fluoreszenzanalyse in der Mikrochemie. Wien und Leipzig.

Hamence, J. H., 1943 I: A fluorescence-test for indole-3-acetic acid. The Analyst **68**, 13—14.

— —, 1943 II: Detection and estimation of auxins in organic manures. The Analyst **68**, 356—361.

Hieke, K., 1942/43: Pflanzenphysiologische Untersuchungen über die Alkaloide II. Planta **33**, 185—205.

Holt, P. F. and Callow, H. J., 1943: The detection of indole-3-acetic acid. The Analyst **68**, 351—355.

Homer, A., 1915: A spectroscopic examination of the color reactions of certain indole derivatives and of the urine. J. Biol. Chem. **22**, 345—368.

Huber, H., 1951: Über den Einfluß der Belichtung auf die Wuchsstoffempfindlichkeit der Keimstengel von *Cucumis sativus L.* Ber. Schweiz. Bot. Ges. **61**, 499—538 (Diss. Basel).

Keller, C. C., 1896: Neue Studien über *Secale cornutum*, Ergotinin, Cornutin, Spasmotin. Schweiz. Wschr. für Chemie und Pharmacie **34**, 65—74.

Kisser, J., 1950: Vortragsreferat vom 1. Int. Kongreß für Mikrochemie Juni 1950 in Graz, in Chimie analytique **32**, 313, 1950.

Koschara, W., 1936: Isolierung eines gelben Farbstoffs (Uropterin) aus Menschenharn. Z. physiol. Chem. **240**, 127—151.

Lefèvre, J., 1938: Sur la présence normale d'acides indoliques et particulièrement de l'acide ß-indolyle acétique dans diverses plantes superieures. C. R. Acad. des Sci. **206**, 1675—1677.

Lepeschkin, W. W., 1938: Kolloidchemie des Protoplasmas. Dresden und Leipzig.

Linser, H., 1951: Versuche zur chromatographischen Trennung pflanzlicher Wuchsstoffe. Planta **39**, 377—401.

Lison, L., 1936: Histochimie animale. Paris.

Masayama, T. und Itagaki, C., 1941: Eine Modifikation der Tryptophanbestimmung nach Tillmans und Alt. Z. physiol. Chem. **270**, 41—44.

Metzner, P., 1930: Über die Abgabe fluoreszierender Stoffe durch quellende Samen und Früchte. Biochem. Z. **224**, 448—458.

Mitchell, J. W. and Brunstetter, B. C., 1939: Colorimetric methods for the quantitative estimation of indole-3-acetic acid. Bot. Gazette **100**, 802—816.

Molisch, H., 1921: Mikrochemie der Pflanze. Jena.

Montignie, E., 1932: Nouvelle réaction colorée des composés pyrroliques et indoliques. Bull. Soc. Chim. France **51**, 689—690.

Morton, A. A., 1946: The Chemistry of Heterocyclic Compounds. New York.

Salkowski, E., 1883: Zur Kenntnis der Eiweißfäulnis I. Z. physiol. Chem. **8**, 417—466.

— —, 1885: Über das Verhalten der Skatolcarbonsäure im Organismus. Z. physiol. Chem. **9**, 23—33.

— —, 1919: Über die Ehrlichsche Reaktion mit p-Dimethylaminobenzaldehyd und das Urorosein. Biochem Z. **97**, 122—128.

Schmid, K., 1949: Zusammensetzung des Wal-Myoglobins. Helv. Chim. Acta **32**, 1198—1208.

Seiler, L., 1951: Über das Wurzelwachstum und eine Methode zur quantitativen Untersuchung des Einflusses von Wirkstoffen. Ber. Schweiz. Bot. Ges. **61**, 622—663 (Diss. Basel).

Skoog, F., 1938: Absorption and translocation of auxin. Amer. J. Bot. **25**, 361—372.

Söding, H., 1952: Die Wuchsstofflehre. Stuttgart.

Spies, J. R., 1950: Determination of tryptophane with p-dimethylaminobenzaldehyde. Anal. Chem. **22**, 1447—1449.

Stoll, A., Hofmann, A. und Petrzilka, Th., 1946: Die Dihydroderivate der rechtsdrehenden Mutterkornalkaloide. Helv. Chim. Acta **29**, 635—653.

Stoppani, A. O. M., 1945: Determination of indole-3-acetic acid. Anales soc. quim. argentina **33**, 63—70, zit. nach Chem. Abstr. **40**, 3369, 1946.

Strugger, S., 1949: Fluoreszenzmikroskopie und Mikrobiologie. Hannover.

Sutter, E., 1944: Die chemische Bestimmung des Heteroauxins und Versuche über seine Aufnahme durch die Pflanze. Ber. Schweiz. Bot. Ges. **54**, 197—244 (Diss. Basel).

Tauber, H., 1952: New color reaction for steroids with perchloric acid. Anal. Chem. **24**, 1494—1495.

Thimann, K. V. and Bonner, J., 1932: Studies on the growth hormone of plants. II. The entry of growth substance into the plant. Proc. Nat. Acad. Sci. **18**, 692—701.

— — and — —, 1933: The mechanism of the action of the growth substance of plants. Proc. Roy. Soc. B. **113**, 126—149.

van Urk, H. W., 1929: p-Dimethylaminobenzaldehyde als Reagens op organische Geneesmiddelen. Pharm. Weekblad (Amsterdam) **66**, 101—108.

Weehuizen, F., 1911: Über indoloide Düfte. Rec. des trav. bot. néerl. **8**, 97—107.

Weiss, M., 1947: Entstehung des Magenkrebses durch Indol und Indolderivate der Eiweißfäulnis. Wiener klin. Wschr. **59**, 40—43.

Wildman, S. G., Ferri, M. G. and Bonner, J., 1947: The enzymatic conversion of tryptophane to auxin by spinach leaves. Arch. of Biochem. **13**, 131—144.

— — and Bonner, J., 1948: Observations on the chemical nature and formation of auxin in the avena coleoptile. Am. J. Bot. **35**, 740—746.

Winkler, S., 1934: Über die Tryptophanreaktion von Adamkiewicz-Hopkins. Z. physiol. Chem. **228**, 50—60.

— — und Petersen, S., 1935: Tryptophanreaktion und Nachweis des Heteroauxins. Z. physiol. Chem. **231**, 210—212.

Yu Wei Tang and Bonner, J., 1947: The enzymatic inactivation of indole-3-acetic acid. I. Some characteristics of the enzyme contained in pea seedlings. Arch. of Biochem. **13**, 11—25.

Zyunki Tanaka, 1940: A colorimetric detection of indole-3-acetic acid. J. Pharm. Soc. Japan **60**, 76—83, zit. nach Chem. Abstracts **34**, 3622, 1940.

Besprechungen

Pape, Heinrich, Krankheiten und Schädlinge der Zierpflanzen und ihre Bekämpfung. Vierte neubearbeitete und erweiterte Auflage. 559 S. Mit 4 farbigen Tafeln und 474 Textabbildungen. Paul Parey, Berlin und Hamburg, 1955. Preis DM 53,80.

Die seit langem erwartete Neuauflage des Papeschen Nachschlagewerkes über Zierpflanzenkrankheiten und -schädlinge und die zugehörigen Bekämpfungsmaßnahmen ist ein erfreuliches Ereignis nicht nur für die Zierpflanzenfachleute unter den Gärtnern, sondern zugleich für alle an diesem Bereich des Pflanzenschutzes interessierten Kreise. Die bewährte Einteilung des Werkes in einen ersten allgemeinen Teil, in dem wirtschaftliche Bedeutung, Ursachen sowie Verhütung und Bekämpfung der Zierpflanzenkrankheiten und -schädigungen in kurzem Überblick behandelt werden, und in den zweiten besonderen Teil mit einzelnen Abhandlungen über Krankheiten und Schädigungen, die bei vielen Zierpflanzenarten auftreten, sowie über Krankheiten und Schädigungen an einzelnen alphabetisch nacheinander angeordneten Zierpflanzenarten und die jeweils für die beiden Fälle bekannten Bekämpfungsmaßnahmen ist beibehalten worden. Dabei sind viele Änderungen und Ergänzungen zu verzeichnen, die auf Grund der inzwischen gewonnenen weiteren Erkenntnisse über Ursachen und Ablauf von Schädigungen und nach den weitreichenden Neuerungen im Bereich chemischer Bekämpfungsmaßnahmen eingearbeitet worden sind. Auch einige, inzwischen häufiger angezogene Zierpflanzenarten wie Cissus, Gerbera, Sansevieria u. ä. sind neu aufgenommen. So ist der Umfang des Werkes um 82 Textseiten und um 138 Textabbildungen gegenüber der vorhergegangenen Auflage erweitert.

Im allgemeinen Teil setzen die Ergänzungen schon bei den Hinweisen auf die wirtschaftlichen Auswirkungen von Zierpflanzenschädigungen mit weiteren Beispielen etwa über Schäden durch Rote Spinne an Nelken, durch Engerlinge an Rosen, durch Thrips an Gladiolen u. ä. ein. Die vielfältigen Neuerungen der Bekämpfungsmöglichkeiten sind in einigen Beispielen zur biologischen Bekämpfung und besonders bei den technischen Bekämpfungsmaßnahmen mit den zeitentsprechenden Nachträgen berücksichtigt worden. Hier haben zunächst die Forschritte in der für die Zierpflanzenkultur hochwichtigen Bodenentseuchung sowohl mit neuen Dämpfgeräten wie mit neuen chemischen Mitteln Aufnahme gefunden. Das ausführlich behandelte Chlorpikrinverfahren bedarf allerdings noch der behördlichen Zulassung und Regelung. Weiterhin sind die chemischen Bekämpfungsmittel und -verfahren für die Pflanzenbehandlung genannt und erläutert, wobei die hier besonders zu beachtenden Eigenschaften der Mittel wie Mischbarkeit, störender Spritzbelag usw. erwähnt sind. Unter den Präpraraten sind wohl im Hinblick auf einen weiten Leserkreis auch eine Reihe von Erzeugnissen genannt, die im deutschen Pflanzenschutz nicht eingeführt sind. Wenn ein Bedürfnis für solche Mittel in diesem Bereich besteht, werden sie wie etwa die mit Insektiziden kombinierten Trockenbeizmittel, die noch als erwünscht aufgeführt werden, aber inzwischen schon lieferbar sind, bald auch verfügbar gehalten. Jedenfalls sind die Hinweise auf Spritz- und Stäubemittel gegen die verschiedenen Krankheiten und Schädlinge, auf Begasungs-, Räucher- und Ködermittel sowie auf Saatgutbeizmittel dem derzeitigen Entwicklungsstand angeglichen.

Im besonderen Teil geht die Darstellung der Krankheiten und Schädigungen jeweils vom Schadbild an der betroffenen Zierpflanzenart aus, erläutert sodann die Schadensursache und zeigt die Bekämpfungsmöglichkeiten auf. So werden im Abschnitt über die bei vielen Zierpflanzenarten vorkommenden Schadensursachen pflanzliche Krankheitserreger, tierische Schädlinge an unterirdischen und an oberirdischen Pflanzenteilen, Viruskrankheiten und Schädigungen nichtparasitärer Art behandelt. Von den pflanzlichen Erregern sind hier zu finden: Vermehrungspilze und Umfallerreger, Wurzelbräune, Schleimpilze und Tintlinge, Bakterienkrebs, Fusariumfußkrankheiten, Wirtelpilzwelke,

Sklerotiniafäulen, Falscher und Echter Mehltau, Rost, Grauschimmel, Rußtau, Rotpustelkrankheit, Baumschwämme und Milchglanz. Bei den tierischen Schädlingen werden erläutert z. B. die Schäden durch Älchen in Wurzeln, Stengeln und Blättern, durch Wurzelmilben und Wurzelläuse, durch Erdraupen, Drahtwürmer, Engerlinge, durch Maulwurfsgrille und durch Wühlmaus, weiterhin durch Spinnmilben, Blasenfüße, Blatt- und Schildläuse, Mottenschildläuse, Blattwanzen, Erdflöhe, Blattnager, Ameisen und Mäuse. Für die Viruskrankheiten sind hier die wichtigsten allgemeinen Erkenntnisse über die Krankheitsstoffe, die Wirtspflanzenkreise, die Übertragung und den Krankheitsverlauf mit den Bekämpfungsmöglichkeiten angegeben.

In derselben Anordnung werden Krankheiten und Schädigungen der einzelnen Zierpflanzenarten, die im Hauptabschnitt des Werkes nun aufeinanderfolgen, abgehandelt. Dabei sind für einige Pflanzenarten besondere Empfindlichkeiten, etwa bei bestimmten Bodenreaktionen oder gegen bestimmte Bekämpfungsmittel, vorangestellt. Viele neue Erkenntnisse von Krankheitsursachen sind sodann hier eingegliedert und besonders häufig bei den Viruskrankheiten nachgetragen. Ebenso sind die Bekämpfungshinweise überall durch Einbeziehung der neuen Wirkstoffe und Mittel ergänzt oder geändert. Den Beschluß des Bandes bilden eine überarbeitete Auswahl des Schrifttums, ein Verzeichnis der genannten Zierpflanzen und ein ausführliches Sachverzeichnis mit Hinweisen auf die zugehörigen Abbildungen.

Das bekannte Nachschlagewerk liegt damit in einer Fassung und Ausstattung vor, die jedem Benutzer anregend und hilfreich sein wird. H. Müller, Berlin-Dahlem

Standardwerke des Pflanzenschutzes

Krankheiten und Schädlinge der Kulturpflanzen und ihre Bekämpfung

Für Praxis und Studium

Von

Prof. Dr. H. Braun
Direktor des Instituts für Pflanzenkrankheiten der Universität Bonn

und

Dr. E. Riehm
Präsident i. R. der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft

7., neubearbeitete Auflage, 1953. 348 Seiten mit 290 Textabbildungen, broschiert DM 24,80, in Ganzleinen DM 26,80

Der Braun-Riehm ist, wachsend mit der Bedeutung des Pflanzenschutzes, der Zunahme an Erkenntnissen und Fortschritten in den Bekämpfungsmethoden, zu einem international geachteten Standardwerk geworden. Praxis und Studium erhalten einen wirklich auf der Höhe der Zeit stehenden Überblick über die Erkenntnisse und Erfahrungen auf dem Gebiete der Phytomedizin.

„Der BRAUN-RIEHM ist unbestritten das beste deutsche Buch, das einen Überblick über das Gesamtgebiet der Auswirkung von Krankheiten und Schädlingen an unseren Kulturpflanzen gibt, nicht zuletzt durch seine hervorragende Ausstattung mit Bildmaterial, das in der vorliegenden Auflage eine wesentliche Erweiterung und Verbesserung erfahren hat."
Berichte über die gesamte Biologie

Krankheiten und Schädlinge im Obstbau und ihre Bekämpfung

Von Prof. Dr. W. Kotte
Direktor des Staatlichen Instituts für Pflanzenschutz in Freiburg i. Br.

2., neubearbeitete Auflage, 1948. 337 Seiten mit 213 Abbildungen und 8 farbigen Tafeln. In Halbleinen DM 25,60

Das bewährte Buch gibt jedem, der Obstbau treibt oder in ihm lehrend oder lernend tätig ist, die biologischen und technischen Kenntnisse in die Hand, um den Kampf gegen Krankheiten und Schädlinge durchzuführen und damit höhere und gütemäßig bessere Ernten erzielen zu können.

„Das Buch stellt doch wohl die beste zusammenfassende Bearbeitung des Gegenstandes dar, die wir zur Zeit haben." Nachrichtenblatt der Biologischen Bundesanstalt Braunschweig

Vom gleichen Verfasser liegt vor:

Krankheiten und Schädlinge im Gemüsebau und ihre Bekämpfung

2., völlig neubearbeitete Auflage, 1952.
288 Seiten mit 186 Abbildungen und 8 Farbtafeln. In Ganzleinen DM 27,—

Das Buch des als Wissenschaftler und Praktiker bekannten Autors vermittelt in seiner neuen Auflage in erweiterter Form die notwendigen Kenntnisse zur Erkennung und Bekämpfung von Krankheiten und Schädlingen in den Gemüsekulturen. Die durch die neuzeitlichen Insektengifte und technischen Geräte eröffneten Möglichkeiten werden in ihrer überragenden Bedeutung eingehend gewürdigt.

„Im neuen Kotte liegt nunmehr wieder ein repräsentatives Handbuch für den fortschrittlichen Gemüsebauer vor, das rückhaltlos empfohlen werden kann." Pflanzenschutz

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG

Seit Juni 1955 erscheint in Lieferungen:

HANDBUCH
DER PFLANZENZÜCHTUNG

Begründet von Prof. Dr. Dr. h. c. TH. ROEMER und Prof. Dr. W. RUDORF

2. Auflage in 6 Bänden

Unter Mitwirkung zahlreicher Wissenschaftler und in Gemeinschaft mit den Professoren Dr. H. K. HAYES, St. Paul/USA, und Dr. A. MÜNTZING, Lund/Schweden

herausgegeben von

Prof. Dr. **H. KAPPERT** Berlin und Prof. Dr. **W. RUDORF** Köln-Vogelsang

I. Band
Grundlagen der Pflanzenzüchtung

II. Band
Züchtung der Getreidearten

III. Band
Züchtung von Knollen- und Wurzelfruchtarten

IV. Band
Züchtung der Futterpflanzen

V. Band
Züchtung der Sonderkulturen
(Öl-, Eiweiß-, Faser- und Gewürzpflanzen sowie Drogen)

VI. Band
Züchtung von Gemüse, Obst und Reben. Anhang: Forstpflanzenzüchtung

Die Neuauflage dieses Standardwerkes für die landwirtschaftliche und gärtnerische Pflanzenzüchtung stellt gegenüber der ersten Auflage eine völlige Neuschöpfung dar, in der die letzten sicheren Forschungsergebnisse des In- und Auslandes verwertet wurden. Im Zeitalter der Spezialisierung auf allen Gebieten bietet das Werk eine hervorragende und jedem Züchter willkommene Synthese der in zahllosen, verstreuten Abhandlungen und Darstellungen enthaltenen Einzelergebnisse. Der internationale Charakter des reich illustrierten Werkes wird durch die Veröffentlichung der Beiträge in deutscher oder englischer Sprache hervorgehoben.

Seit Juni 1955 erscheint die Neuauflage dieses großangelegten Werkes in etwa monatlichen Lieferungen. Die Lieferung umfaßt 5 Bogen zu 16 Seiten. Ermäßigter Subskriptionspreis der Lieferung DM 13,50, der mit Ausgabe der letzten Lieferung erlischt. Einbanddecken gelangen am Schluß jedes Bandes zur Ausgabe und werden gesondert berechnet. Die Subskription verpflichtet zur Abnahme des Gesamtwerkes (etwa 38 Lieferungen).

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG

Verlag Paul Parey, (1) Berlin SW 68, Lindenstr. 44-47, Tel. 61 44 68/69. Herausgeber: Prof. Dr. E. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstr. 2, Prof. Dr. M. Klinkowski, Aschersleben, Ermslebener Str. 52, und Prof. Dr. H. Richter, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Straße 19. Printed in Germany. Druck von A. W. Hayn's Erben, Berlin SO 36. Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des auszugsweisen Nachdrucks und der photomechanischen Wiedergabe, vorbehalten. — Erscheinungsweise: Jährlich etwa 8 Hefte (4 Hefte = 1 Band).